



Universidade de Aveiro Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro
2011

**Liliana Sofia Oliveira
Pires**

**Biocerâmicos e Biovidros para prototipagem 3D:
propriedades e formulações**



**Liliana Sofia Oliveira
Pires**

**Biocerâmicos e Biovidros para prototipagem 3D:
propriedades e formulações**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Materiais, realizada sob a orientação científica do Doutor José Martinho Marques de Oliveira, Professor Coordenador da Escola Superior Aveiro Norte da Universidade de Aveiro e da Doutora Maria Helena Figueira Vaz Fernandes, Professora Associada do Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro.

Para o meu Pai!

o júri

presidente

Prof. Doutor Jorge Ribeiro Frade
professor catedrático da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Paulo Jorge da Silva Bártolo
professor coordenador do Instituto Politécnico de Leiria

Prof. Doutor José Martinho Marques de Oliveira
professor coordenador da Escola Superior Aveiro Norte da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Maria Helena Figueira Vaz Fernandes
professor associado da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Um grande agradecimento ao Professor José Martinho Oliveira e à Professora Maria Helena Figueira Vaz Fernandes pela orientação e apoio na realização deste trabalho, pela confiança, bem como pelo convite efectuado para trabalhar na área dos biomateriais.

A todos os colegas de laboratório e do Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro, especialmente à Ana Margarida Silva pelo apoio incansável durante toda a realização experimental deste trabalho.

A todos os técnicos e docentes do DECV e da ESAN que me auxiliaram na execução das várias tarefas deste trabalho.

A toda a minha família, e amigos por todo o apoio e compreensão neste período tão importante.

Um obrigado muito especial aos meus pais e namorado, Jorge, pelo amor, carinho e apoio incondicional ao longo deste percurso.

palavras-chave

Biocerâmicos e Biovidros, *scaffolds*, impressão 3D, Prototipagem Rápida (PR).

resumo

O presente trabalho teve como objectivo produzir estruturas porosas vítreas para engenharia de tecidos através da técnica aditiva de prototipagem rápida por impressão tridimensional (3DP). Foi utilizada uma máquina ZPrinter 310, ZCorporation e para a definição das formulações a imprimir usou-se, como referência, o pó comercial fornecido com a máquina.

Com base nos resultados da caracterização física do pó comercial (tamanho médio de partícula, distribuição granulométrica, análise microestrutural e cristalográfica) foram preparadas várias formulações da composição vítrea designada por T14P43, do sistema $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$, identificada, em trabalhos anteriores, como possuindo características bioactivas, adequadas para aplicações em contacto com o tecido ósseo.

Para a impressão dos modelos de vidro na máquina de prototipagem, foi definido um modelo virtual e elaborado o padrão, em pó comercial, e realizou-se um estudo sistemático dos parâmetros processuais considerados relevantes (composição do ligante, formulação de pó, nível de saturação no *shell* e *core*, *bleed compensation* e espessura da camada impressa), por forma a determinar as condições mais adequadas para a produção de estruturas porosas utilizáveis em engenharia de tecidos.

Os modelos de vidro impressos foram sinterizados de acordo com programas térmicos definidos com base nas propriedades do vidro, e depois caracterizados a nível dimensional, morfológico, estrutural e mecânico. No final, foram submetidos a testes de mineralização em meio fisiológico simulado.

Neste trabalho ficou demonstrado que é possível utilizar uma máquina de impressão 3DP para a fabricação de estruturas porosas vítreas com características adequadas a aplicações como suporte temporários em engenharia de tecidos. As propriedades mecânicas das estruturas produzidas e a sua capacidade de mineralização em fluidos fisiológicos sugerem que as mesmas poderão ser utilizadas na área da regeneração de tecido ósseo em situações de baixa solicitação mecânica.

keywords

Bioceramics and Bioglass, *scaffolds*, 3D printing, Rapid Prototyping (RP)

abstract

The aim of the present study was to produce porous glassy structures for tissue engineering by additive rapid prototyping technique for three-dimensional printing (3DP). It was used a ZPrinter 310, ZCorporation machine and for the definition of the printable formulations, the commercial powder supplied with the machine, was used as a reference.

Based on the results of the commercial powder characterization (average particle size, particle size distribution, microstructural and crystallographic analysis) several formulations of a glassy composition were prepared. This composition, of the $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$ system and named T14P43, showed, in previous works, to exhibit a bioactive behaviour, suitable for applications in contact with bone tissue.

For printing the glass models in the prototyping machine, a virtual model was defined, the “standard model”, in commercial powder was produced, and a systematic study of the relevant processing parameters (composition of the binder, formulation of powder, saturation level in the shell and core, bleed compensation and printed layer thickness), was carried out in order to determine the most suitable conditions for the fabrication of porous structures for tissue engineering applications.

Printed glass models were sintered through thermal programs the glass properties, and then characterized in terms of dimensions, structure, morphological features and mechanical properties. Finally, the sintered models were submitted to mineralization tests in simulated physiological media.

In this work it was demonstrated that it is possible to use a printing machine to manufacture 3DP glassy porous structures with suitable characteristics for tissue engineering applications as temporary scaffolds. The mechanical properties of the produced structures and their mineralization capability in physiological fluids suggest that they have potential to be used in bone tissue regeneration under low load bearing situations.

Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Estrutura, propriedades e remodelação do tecido ósseo	3
1.1.1 Osso Compacto e Osso esponjoso	4
1.1.2 Recuperação óssea	5
1.2. Engenharia de tecidos	7
1.3 Técnicas de fabrico de <i>scaffolds</i>	9
1.4 Prototipagem Rápida para o fabrico de <i>scaffolds</i>	11
1.4.1 Estereolitografia (SL)	11
1.4.2 Fabricação de Objectos por Camadas (LOM)	13
1.4.3 Sinterização Selectiva por Laser (SLS)	14
1.4.4 Modelação por Extrusão de Plástico (FDM)	15
1.4.5 Cura Sólida na Base (SGC).....	16
1.4.6 Impressão Tridimensional (3DP)	17
1.4.7 Comparação das várias técnicas PR.....	18
1.5 Biocerâmicos/Biovidros e a 3DP	20
1.6 Principais requisitos para 3DP	23
1.7 Enquadramento do presente trabalho	26
2. Procedimento experimental.....	29
2.1 Preparação e fusão das composições vítreas.....	32
2.1.1 Materiais.....	32
2.1.2 Preparação da frita.....	32
2.2 Preparação e caracterização dos pós para impressão 3D	33
2.2.1 Preparação dos pós de vidro T14P43	33
2.2.2 Testes de ligação dos pós de vidro T14P43 e de outras formulações	34
2.3 Produção de <i>scaffolds</i> de vidro T14P43 por impressão 3D	36
2.3.1 Impressão 3D	36
2.3.2 Parâmetros para impressão 3D	37
2.3.3 Pós-processamento: sinterização	40

2.4 Caracterização de amostras de vidro T14P43	41
2.4.1 Caracterização dimensional, superficial, morfológica e cristalográfica	41
2.4.2 Propriedades mecânicas.....	41
2.4.3 Testes de mineralização em SBF	42
2.5 Técnicas de caracterização	43
2.5.1 Análise cristalográfica	43
2.5.2 Análise de distribuição granulométrica	43
2.5.3 Medição da densidade do pó.....	43
2.5.4 Análise microestrutural.....	43
2.5.5 Medição da rugosidade.....	44
2.5.6 Área superficial específica	44
2.5.7 Análise térmica diferencial e termogravimétrica	44
2.5.8 Análise dilatométrica	44
2.5.9 Ensaios mecânicos	44
2.5.10 Espectroscopia de emissão por plasma indutivo.....	44
3. Resultados e Discussão	45
3.1 Preparação e caracterização dos pós para impressão 3D	46
3.1.1 Preparação de pós.....	46
3.1.2 Testes de ligação dos pós de vidro T14P43.....	51
3.2 Produção de <i>scaffolds</i> de vidro T14P43 por impressão 3D	54
3.2.1 Parâmetros para impressão 3D	54
3.2.2 Pós-processamento: sinterização	61
3.3 Caracterização das amostras de vidro T14P43	64
3.3.1 Caracterização física, superficial, morfológica e cristalográfica	64
3.3.2 Propriedades mecânicas.....	67
3.3.3 Testes de mineralização em SBF	68
4. Conclusão.....	75
5. Bibliografia.....	79
6. Anexos.....	89

Índice de figuras

Figura 1. Estrutura do osso longo: a) úmero (osso do braço), b) caracterização da epífise e c) caracterização da diáfise [16].....	4
Figura 2. Processo de recuperação de fracturas [16].....	6
Figura 3. Proliferação das células para produzir um implante funcional [13].	8
Figura 4. Engenharia de tecidos vs enxertos ósseos específicos produzidos por PR: dados de tomografia computadorizada do defeito ósseo (a) são utilizados para a produção de modelos CAD (b) que são transferidos para a máquina PR (c), que sectiona transversalmente o modelo em várias camadas construídas sucessivamente (d) permitindo obter um <i>scaffold</i> (e) que reconstrua defeitos ósseos (f e g) [34].....	10
Figura 5. Desenho esquemático do processo SL [30].	12
Figura 6. Desenho esquemático do processo LOM [50].....	13
Figura 7. Desenho esquemático do processo de SLS [30].....	14
Figura 8. Desenho esquemático do processo de FDM [30].....	15
Figura 9. Desenho esquemático do processo SGC [50].....	16
Figura 10. Desenho esquemático do processo de impressão tridimensional [30].	17
Figura 11. Desenho esquemático da preparação das camadas de pó no processo de impressão 3D [80].	24
Figura 12. Configurações padrão geram maior imprecisão (a). A activação da função <i>bleed compensation</i> permite uma maior precisão (b). Análise dos desvios apresentados segundo o eixo dos zz – impressora 3D [93].....	26
Figura 13. Esquema resumo do procedimento experimental.	31
Figura 14. Fusão das misturas preparadas no forno eléctrico (a) e vazamento do vidro fundido para dentro de água (b).....	32
Figura 15. Frita de vidro T14P43 (a) no moinho Retsch-RM 10 (b).....	33

Figura 16. Terceiro teste de adesão de pós utilizando diferentes ligantes.....	34
Figura 17. Compactos de vidro obtidos pelo quarto teste de adesão de pós.....	35
Figura 18. Desenho técnico do modelo CAD (a) desenvolvido e modelo padrão (b).....	36
Figura 19. Máquina de prototipagem ZPrinter 310 (a) e sua área de impressão (b).....	36
Figura 20. Modelo virtual com duas (a) e três (b) secções de cilindros.....	37
Figura 21. Difratoograma do pó comercial e do pó de vidro T14P43.	46
Figura 22. Distribuição de tamanho de partículas do pó comercial (zp140).....	47
Figura 23. Tamanho médio de partícula versus tempo de moagem (pó de vidro T14P43).	48
Figura 24. Distribuição granulométrica do pó comercial (zp140) e de vidros preparados.....	49
Figura 25. Distribuição de tamanho de partículas do pó comercial e o pó de vidro em diferentes formulações.	50
Figura 26. Micrografias obtidas por SEM e espectro EDS do pó de vidro (a e c) e do pó comercial (b e d).	51
Figura 27. Micrografias obtidas por SEM dos compactos de vidro com ácido fosfórico (5%) (i e iv), ácido cítrico (15%) (ii e v) e água destilada (iii e vi).....	52
Figura 28. Micrografias obtidas por SEM de compactos de vidro ligados com água desionizada (a), 5% ácido cítrico (b), água destilada (c) e 15% ácido cítrico (d).....	54
Figura 29. Impressão 3D de pó de vidro ($G < 106\mu\text{m}$) com água desionizada	55
Figura 30. Impressão 3D de pó de vidro (G90F10) (1) e o modelo padrão (2). Vista lateral (a) e de topo (b).	55
Figura 31. Impressão de modelos com menor saturação de ligante: modelo impresso 3 (a), 4(b) e 5(c).	56
Figura 32. Impressão de modelos com menor saturação de ligante (nível de saturação no <i>core</i> de 0% e nível de saturação no <i>shell</i> de 51%,69% e 83%): modelo impresso 3 (a), 4(b) e 5(c).	56
Figura 33. Desvios calculados correspondentes à largura dos cilindros.	59
Figura 34. Desvios calculados correspondentes à altura dos cilindros.	60
Figura 35. Comparação dimensional e geométrica do modelo CAD (a) com o <i>scaffold</i> impresso com pó e ligante comercial (b) e o <i>scaffold</i> impresso com pó de vidro T14P43 (G80F20) e ligante com 70% água desionizada e 30% de álcool (c).	61
Figura 36. ATD/TG do pó de vidro T14P43.	62
Figura 37. Análise dilatométrica de uma amostra impressa de vidro T14P43.	62

Figura 38. Programa de sinterização.	63
Figura 39. Estudo da cristalização do vidro T14P43 – DRX.	64
Figura 40. Rugosidade das amostras submetidas a diferentes tratamentos térmicos.	65
Figura 41. Micrografias à fractura das amostras de vidro em verde (a) e amostras de vidro sinterizadas a (670°C (b), 680°C (c) e 690°C (d).	66
Figura 42. Variação da % de absorção de água e a % porosidade aparente das amostras de vidro com a temperatura de sinterização.	67
Figura 43. Resistência à compressão das amostras de vidro sinterizadas a diferentes temperaturas.	68
Figura 44. Micrografias da superfície polida da amostra não imersa em SBF (iii e vi) e amostras imersas em SBF durante 14 dias (i e iv), 21 dias (ii e v).	70
Figura 45. Micrografias da superfície não polida da amostra não imersa em SBF (iii e vi) e amostras imersas em SBF durante 14 dias (i e iv), 21 dias (ii e v).	71
Figura 46. DRX da superfície polida da amostra imersa em SBF durante 21 dias.	72
Figura 47. Concentração iónica de Ca na solução de SBF durante vários tempos de imersão das amostras sinterizadas (680°C) de vidro T14P43.	72
Figura 48. Concentração iónica de P na solução de SBF durante vários tempos de imersão das amostras sinterizadas (680°C) de vidro T14P43.	73
Figura 49. Gradiente de temperaturas no forno.	96

Índice de tabelas

Tabela I. Factores que diferenciam os processos de PR [2, 25, 33].	19
Tabela II. Tabela resumo das diferentes formulações utilizadas para a impressão 3D de <i>scaffolds</i> para a engenharia de tecidos.....	25
Tabela III. Tabela resumo dos pós e ligantes utilizados nos testes de adesão.....	35
Tabela IV. Formulações de pós de vidro utilizadas para impressão 3D.....	37
Tabela V. Parâmetros de processamento utilizados na primeira fase de optimização do processo.	38
Tabela VI. Parâmetros de processamento utilizados na segunda fase de optimização do processo.	39
Tabela VII. Parâmetros de processamento utilizados na terceira fase de optimização do processo.	39
Tabela VIII. Parâmetros de processamento utilizados na quarta fase de optimização do processo.	40
Tabela IX. Concentração iónica e pH do SBF e do plasma humano [96].	42
Tabela X. Ordem, fórmula química, marca e quantidade dos reagentes utilizados para preparação de 1 litro de SBF [96].....	42
Tabela XI. Tempo de secagem dos compactos de vidro – 4º teste de adesão de pós.....	53
Tabela XII. Impressão de modelos com adição de álcool na composição do ligante	57
Tabela XIII. Resumo dos resultados obtidos dos desvios dimensionais dos impressos com diferentes ligantes.	58
Tabela XIV. Caracterização dimensional das amostras de vidro T14P43 para uma densidade em verde de 0,831 g/cm ³	64
Tabela XV. Rugosidade média das amostras de vidro na face lateral e no topo.	65

Tabela XVI. % de absorção de água e a % porosidade aparente das amostras de vidro sinterizadas a diferentes temperaturas de sinterização..... 66

Tabela XVII. Resistência à compressão e deformação específica percentual das amostras de vidro 67

Lista de Abreviaturas e Símbolos

A.A.	Absorção de água
ABS	Acrilonitril-butadieno-estireno
ATD	Análise térmica diferencial
A-W	Apatite-wollastonite
CAD	Desenho assistido por computador
CPP	Polifosfato de cálcio
DCPD	Fosfato dicálcico di-hidratado (brushite)
DRX	Difracção de raios-X
EDS	Espectrometria de dispersão de energias de raios-X
FDM	Modelação por extrusão de plástico
G100	100% de partículas grossas
G80F20	80% de partículas grossas e 20% de partículas finas
G90F10	90% de partículas grossas e 10% de partículas finas
HA	Hidroxiapatite
HCA	Hidroxiapatite carbonatada
HDPE	Poliétileno de alta densidade
ICP	Espectroscopia de emissão por plasma induzido acoplado
LOM	Fabricação de objectos por camadas
Min	Minutos
P.A.	Porosidade aparente
Pa	Peso aparente
PC	Polycarbonato
PCL	Polycaprolactona
PE	Poliétileno
P _h	Peso da amostra húmida
PR	Prototipagem rápida
P _s	Peso da amostra seca
SBF	Fluido fisiológico simulado

SEM	Microscopia electrónica de varrimento
SGC	Cura sólida na base
SL	Estereolitografia
SLS	Sinterização selectiva por laser
TCP	Trifosfato de cálcio
TG	Termogravimétrica
TTCP	Tetrafosfato de cálcio
UHMWPE	Polietileno de ultra elevado peso molecular
UV	Ultra violeta
3D	Tridimensional
3DP	Impressão tridimensional

1. Introdução

O ser humano pode apresentar diversas patologias susceptíveis de desenvolvimento de lesões ou de defeitos ósseos, genericamente associados ao envelhecimento [1]. O tecido ósseo tem a capacidade de se auto-regenerar, mas esta capacidade está limitada a pequenos defeitos [2, 3]. Para regeneração de defeitos ósseos são por vezes utilizados enxertos biocompatíveis que permitam a substituição ou induzam o crescimento do tecido ósseo.

A sociedade tem vindo a deparar-se com grandes avanços técnico científicos na área da medicina regenerativa. Contudo, ainda existem limitações associadas aos tratamentos existentes e, por isso, é importante continuar as investigações neste âmbito [4].

Nos últimos 10 anos, a engenharia de tecidos têm vindo a assumir um papel importante nesta área, optimizando e desenvolvendo novas soluções para o tratamento destes problemas [4]. As técnicas de PR, como a impressão 3D, têm tido um grande desenvolvimento sobretudo associado à produção de estruturas porosas tridimensionais para suportes temporários em aplicações clínicas a partir de materiais biocompatíveis (*scaffolds*).

Actualmente, não existem materiais que satisfaçam todas as exigências clínicas. No entanto vários biomateriais têm sido estudados e apresentam características promissoras para a reconstrução e regeneração dos tecidos [2, 5, 6]. A função dos biomateriais tem sido a de substituir ou recuperar os tecidos ósseos danificados [7]. Os biocerâmicos são classificados como bioinertes (ex: alumina), absorvíveis (ex: trifosfato de cálcio), porosos (ex: hidroxiapatite porosa) e bioactivos (biovidros) [8]. O Biovidro é designado como um material bioactivo pela sua capacidade de promover uma rápida e durável ligação química, induzindo a deposição de novo tecido através de uma interface apatítica com o tecido ósseo [9]. Os biocerâmicos, em particular o biovidro, para além de apresentar propriedades físicas, químicas e biológicas que podem ser compatíveis com as do tecido ósseo, permitem também criar uma actividade química e biológica específica que resulta numa forte ligação na interface com o tecido ósseo [10, 11]. A facilidade em controlar a composição química e, consequentemente, a taxa de degradação dos biovidros tornam estes materiais bastante atraentes para a produção de *scaffolds* [12].

Neste capítulo faz-se uma descrição das principais características do tecido ósseo e do sistema de recuperação óssea e analisa-se os principais requisitos que um *scaffold* deve cumprir para poder ser utilizado no corpo humano. São enunciadas diversas técnicas de fabricação de *scaffolds* e apresentadas as vantagens das técnicas de PR comparativamente às técnicas tradicionais. As principais técnicas de PR são caracterizadas e contextualizadas no âmbito das aplicações biomédicas. Comparam-se e analisam-se as vantagens e desvantagens das técnicas de PR mais utilizadas na engenharia de tecidos. É realizada uma revisão bibliográfica sobre a aplicação da técnica de impressão 3D no desenvolvimento de soluções para a substituição óssea de biocerâmicos e biovidros. Por fim, é efectuada uma análise dos principais requisitos a ter em conta no fabrico de *scaffolds* por impressão 3D.

1.1 Estrutura, propriedades e remodelação do tecido ósseo

Do ponto de vista de engenharia de tecidos, o estudo da função do tecido ósseo, bem como o estudo da sua estrutura e propriedades são fundamentais. É importante também perceber o sistema de remodelação e regeneração óssea, de forma a desenvolver *scaffolds* com capacidade de integração neste sistema [13].

O tecido ósseo, principal constituinte do esqueleto humano, apresenta um papel fundamental na protecção e sustentação do corpo humano. Para além de sustentar os tecidos moles e fornecer fixação para os músculos esqueléticos, protege os órgãos internos, possibilita a movimentação do corpo, armazena e liberta minerais (cálcio e fósforo) e gorduras e ainda faculta a produção de células sanguíneas [14, 15].

Do ponto de vista morfológico, os ossos podem ser classificados em quatro tipos distintos: ossos longos, curtos, achatados ou planos e ossos irregulares. Macroscopicamente, todos os ossos apresentam na sua constituição tecido compacto e tecido esponjoso mas em quantidades distintas.

Os ossos curtos, achatados e irregulares, comparativamente aos ossos longos, apresentam uma estrutura simples constituída apenas por uma camada de osso compacto que envolve a camada de osso esponjoso.

Por outro lado, os ossos longos (Figura 1) situados, por exemplo nos braços e pernas, apresentam uma estrutura mais complexa. As extremidades do osso (epífise), são compostas por osso esponjoso no seu interior e osso compacto e cartilagem articular na superfície externa. A zona central ou corpo do osso (diáfise), apresenta uma grande cavidade medular com medula óssea envolvida por apenas osso compacto.

A superfície do osso (periósteo) é constituída por um tecido conjuntivo denso e fibroso, que possui vasos sanguíneos, nervos e células (osteoblastos e osteoclastos) que executam um papel importante na manutenção do osso. No interior do osso, estas células estão também presentes numa membrana (endósteo) que reveste as superfícies internas do osso. É devido a estas células que adjectivam muitas vezes o osso, como um tecido vivo e dinâmico, uma vez que ele é constantemente degradado e reconstruído [4, 14].

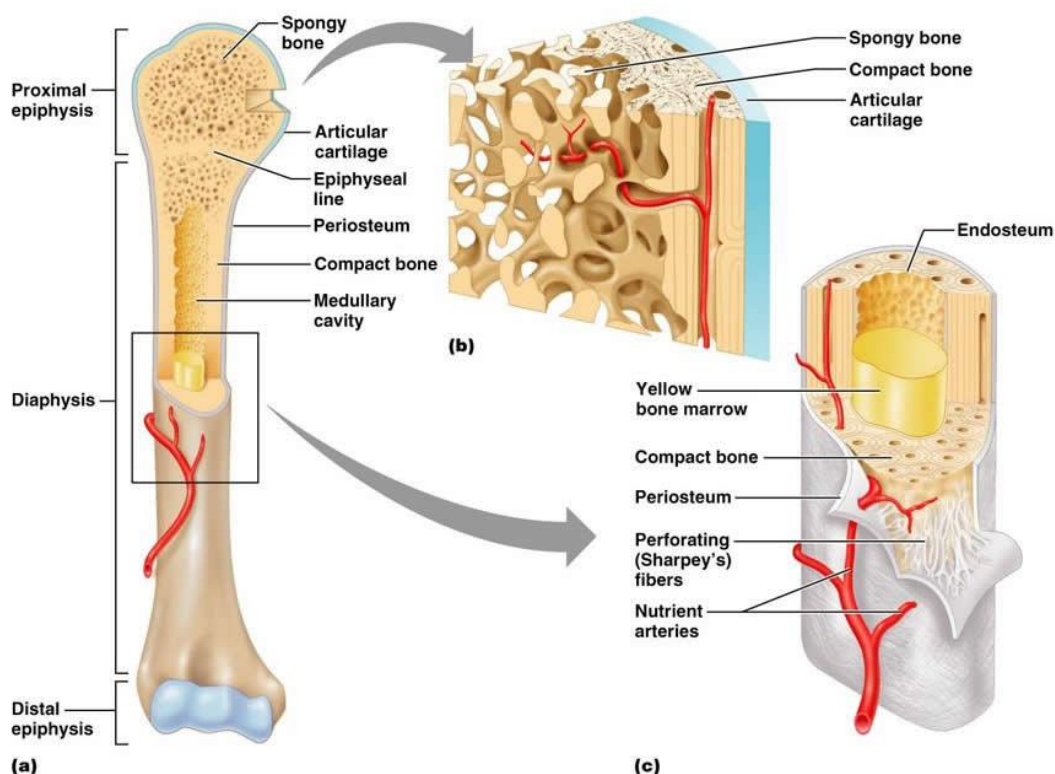


Figura 1. Estrutura do osso longo: a) úmero (osso do braço), b) caracterização da epífise e c) caracterização da diáfise [16].

O osso é um tecido conjuntivo rígido, composto por células e por uma matriz óssea. A matriz é constituída por duas componentes: orgânica e inorgânica. A componente orgânica é composta principalmente por fibras de colagénio, que conferem ao osso flexibilidade. Por outro lado, a resistência do osso deve-se à componente mineral, ou inorgânica, que representa cerca de 70% da sua composição [2]. Esta componente é composta essencialmente por minerais de cálcio e de fósforo, os quais se apresentam na forma cristalina, designados por hidroxiapatite (HA). A combinação destas duas componentes confere ao tecido ósseo propriedades materiais únicas sendo por isso tão difícil de reproduzir ou substituir [14].

1.1.1 Osso Compacto e Osso esponjoso

O tecido ósseo possui na sua estrutura espaços onde estão situados os canais para os vasos sanguíneos que alimentam as células ósseas com nutrientes. A existência deste fluxo de nutrientes confere ao tecido ósseo a capacidade de restauração individual. Dependendo da localização e tamanho destes espaços, o osso é classificado como compacto ou como esponjoso. O osso compacto é um tecido denso com poucos e pequenos espaços, ao contrário do osso esponjoso que é caracterizado pela sua estrutura interconectada de trabéculas que conferem um aspecto esponjoso [14].

A estrutura densa e sólida do osso compacto, existente em grande parte do esqueleto humano confere protecção e suporte [13]. Este osso é composto por uma estrutura concêntrica de lamelas, de 3 a 7mm de espessura, que envolvem os canais dos vasos sanguíneos. Possui também pequenos espaços entre as lamelas, designados por lacunas, onde estão situados os osteócitos. Ao longo do osso, existem também vias interconectadas que permitem fornecer a estas células os nutrientes e o oxigénio que necessitam [14].

As propriedades mecânicas do osso compacto variam consoante o nível de mineralização, a porosidade, a organização da matriz e até consoante o tipo de osso e sua localização. Segundo a literatura o módulo de Young do osso compacto é cerca de 7-30GPa, a resistência à compressão é de 100-230MPa, a porosidade varia entre 5 a 10% e a densidade é de 1800-2000kg/m³ [2, 12, 13].

Por outro lado o osso esponjoso, relativamente ao osso compacto, representa uma parte menor da massa esquelética [13]. Este osso é constituído por uma rede irregular e interconectada de lâminas finas de osso (trabéculas), com cerca de 50-300µm de diâmetro, entre as quais está presente a medula óssea [13, 14]. Os vasos sanguíneos da superfície do osso penetram no tecido esponjoso e nutrifcam também os osteócitos presentes nas lacunas das trabéculas [14].

Uma vez que possui uma estrutura porosa irregular, as propriedades mecânicas do osso esponjoso também variam. Segundo a literatura este osso apresenta um módulo de Young de cerca de 0,5-0,005GPa, uma resistência à compressão de 2-12MPa, uma porosidade de 50-90% e uma densidade de 1820Kg/m³ [2, 12, 13]. Este osso, para além de ser poroso, é remodelado com mais frequência e por isso mais jovem que o osso compacto, aspectos que podem interferir nas propriedades mecânica.

1.1.2 Recuperação óssea

Anualmente, cerca de 1,5 milhões de indivíduos nos Estados Unidos apresentam patologias que promovem o aparecimento de fracturas ósseas, e a tendência tende a aumentar à medida que a população envelhece. A osteoporose é uma das principais doenças responsáveis pelas fracturas ósseas que abrange tanto os homens como as mulheres [17].

O osso tem uma capacidade única de se reconstruir a si próprio mas esta capacidade não é permanente. Com o envelhecimento e conseqüente perda de cálcio, surgem diversas patologias. A osteoporose e a redução da velocidade de formação de proteínas são alguns dos efeitos do envelhecimento responsáveis pelo aparecimento de fracturas e defeitos ósseos [14].

A recuperação destas fracturas deve-se essencialmente a dois tipos de células presentes no osso: os osteoclastos e os osteoblastos. Enquanto os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção e degradação do tecido antigo, os osteoblastos permitem a produção de um novo tecido ósseo. [15].

Durante um processo de recuperação óssea, forma-se uma matriz, constituída por fibras de colagénio, e novos sistemas de *Havers* no osso compacto. Durante a reabsorção do tecido

ósseo, os osteoblastos, formam lamelas em torno dos capilares dando origem a um conjunto de canais, por onde passam os vasos sanguíneos, envolvido por lamelas concêntricas que é designado por sistema de *Havers* (Figura 1 b e c). No interior destes sistemas estão situados osteoclastos que vão remover as lamelas circunferenciais, simultaneamente com a formação de novos sistemas de *Havers* [15].

À medida que diminui a tensão aplicada no tecido ósseo, o nível de actividade dos osteoblastos diminui. Estas condições de tensão reduzida podem ser analisadas em pessoas com incapacidades físicas, acamadas ou paralisadas. Estes indivíduos estão sujeitos a uma diminuição de densidade dos ossos resultante da actividade dos osteoclastos que, ao contrário dos osteoblastos, mantém uma actividade praticamente normal [15].

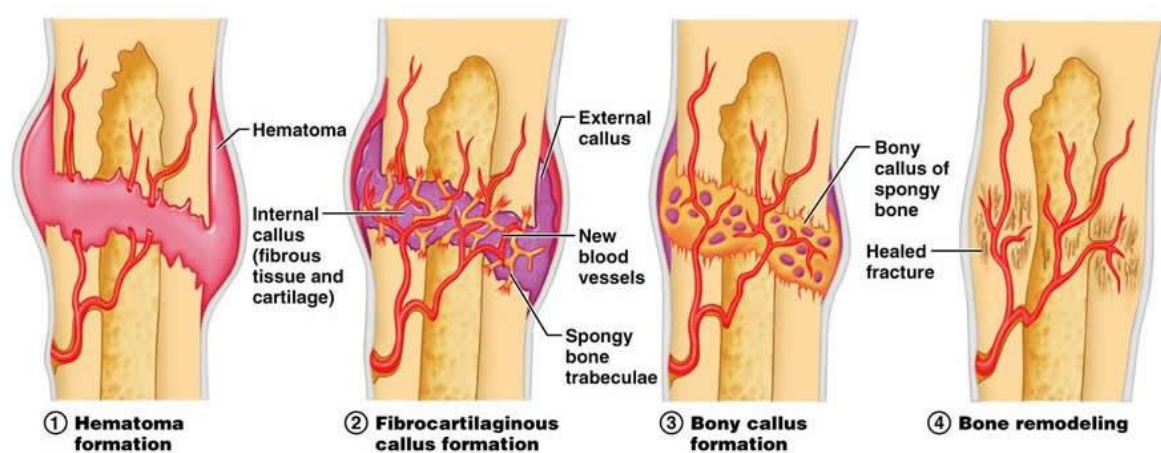


Figura 2. Processo de recuperação de fracturas [16].

Em situação de fratura (Figura 2), os vasos sanguíneos existentes no osso são também afectados. Os vasos sanguíneos rompem e formam coágulos na zona fracturada. Após algum tempo (4-40dias), é produzida uma rede fibrosa, um calo fibrocartilágneo entre os fragmentos ósseos que permite fechar a ferida e ligar os fragmentos [13]. Os osteoblastos substituem este calo por osso esponjoso, o qual posteriormente é substituído por osso compacto de forma a completar a recuperação óssea [15]. A recuperação do osso pode ocorrer entre 6 a 8 semanas, no entanto o tempo de cicatrização pode variar consoante o tipo de fratura e a idade do paciente [13].

Uma vez que o processo de recuperação das fracturas é igual ao processo de desenvolvimento do tecido ósseo, o tecido ósseo recuperado possui as mesmas características que o tecido ósseo original [13].

Apesar de o osso possuir esta capacidade única de auto-regeneração, esta capacidade é limitada a pequenos defeitos. Para melhorar as funcionalidades físicas e anatómicas do osso,

genericamente, existem quatro tipos de enxertos¹: (i) autógenos (*autograft*), (ii) alógenos (*allograft*), (iii) xenógenos (*xenograft*) e (iv) aloplásticos (*alloplastic graft*) [3]. Os autógenos são os enxertos mais utilizados na cirurgia de reconstrução óssea mas são difíceis de aplicar em casos onde exista grandes defeitos [6, 18-20]. Desde logo a extracção de grandes quantidades de tecido autógeno está limitada pela disponibilidade [3, 18, 19, 21]. As desvantagens associadas aos enxertos autógenos conduziram à investigação e ao desenvolvimento de novas alternativas. Nas últimas décadas os enxertos aloplásticos têm recebido especial atenção. A utilização de materiais sintéticos, ao contrário dos enxertos autógenos, oferece a possibilidade de desenvolvimento de arquitecturas específicas e reprodutíveis [5, 22].

1.2. Engenharia de tecidos

Anualmente são realizadas, no mundo, cerca de 2,2 milhões de cirurgias com aplicação de enxertos ósseos, que são responsáveis por grande parte dos recursos de saúde [23, 24]. A par dos diversos problemas associados aos vários tipos de enxertos existentes, existe uma necessidade urgente/emergente de responder aos casos clínicos associados a defeitos ósseos. A engenharia de tecidos surgiu como uma tentativa de responder a estes problemas, com o objectivo de desenvolver um implante de substituição óssea com propriedades semelhantes ao tecido ósseo natural.

Foi em 1993 que Langer e Vancanti [2, 4, 25] definiram pela primeira vez o termo “engenharia de tecidos” como sendo um “campo interdisciplinar de investigação que aplica princípios de engenharia e ciências da vida para o desenvolvimento de substitutos biológicos que restauram, mantêm e melhoram a função do tecido”.

Neste sentido, a engenharia de tecidos combina vários conhecimentos, integrando diversas disciplinas científicas quer ao nível de engenharia, quer ao nível da medicina, de forma a compreender a formação e regeneração do tecido ósseo e desenvolver mais do que simples implantes de reposição, novos tecidos funcionais [4].

Do ponto de vista da engenharia, para promover o crescimento do osso, é necessário uma estrutura 3D (*scaffold*) que simule a configuração geométrica do osso e permita a proliferação celular [4, 25]. Contudo, para a integração desta estrutura no corpo humano, é importante que ela seja detentora de um conjunto de requisitos. Para além das propriedades químicas do material, a macro e microporosidade, bem como as propriedades mecânicas, são aspectos que contribuem directamente para o processo de integração e contribuem para o sucesso clínico.

Para a aplicação clínica de *scaffolds* é importante que estes sejam constituídos por materiais biocompatíveis, materiais que apresentam capacidade de serem biologicamente aceites pelo organismo, quando em contacto com tecidos vivos ou fluidos fisiológicos, sem provocar

¹ Os enxertos autógenos são derivados do próprio paciente, alógenos de outro indivíduo da mesma espécie, xenógenos de outra espécie e aloplásticos de materiais sintéticos.

efeitos nocivos ou reacções alérgicas ou inflamatórias [4, 9]. Contudo, a regeneração de tecidos não resulta apenas da composição do material, a macroestrutura do *scaffold* é também um factor determinante na orientação e apoio do crescimento do tecido ósseo no interior da estrutura [26]. Uma geometria e porosidade adequadas são alguns dos requisitos favoráveis para o crescimento e distribuição de células por toda a estrutura 3D, promovendo a vascularização e regeneração do tecido ósseo danificado [4, 25, 27]. A existência de poros abertos (>40-60%) e de uma microestrutura com uma rede de poros interconectados permite uma rápida difusão de nutrientes celulares, ajuda a promover uma distribuição das células uniforme e assegura a sua sobrevivência, migração e proliferação *in vivo* (Figura 3) [2, 27, 28].

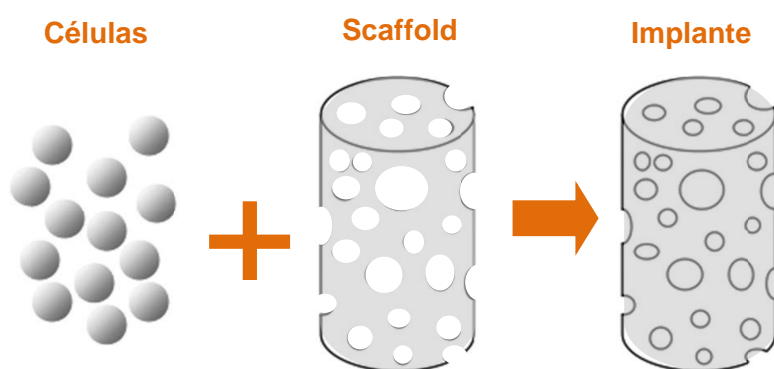


Figura 3. Proliferação das células para produzir um implante funcional [13].

Quanto ao tamanho de poros, este deve ser projectado de forma a permitir a penetração das células, a formação da matriz extracelular e a neovascularização no interior do espécime [4, 25]. Segundo Hutmacher [2], para a regeneração do osso *in vivo*, o tamanho de poros e interconexões deve situar-se entre 50 a 1000 μm e 15 a 50 μm , respectivamente.

Inicialmente, a adesão e proliferação celulares são condicionadas pelas propriedades químicas do material mas os resultados podem ser melhorados com a existência de uma superfície rugosa que promova a migração de células à superfície do material [4, 25]. Uma elevada área de superfície é também adequada para acomodação das células necessárias à substituição ou restauração da função do tecido ósseo [27].

Os materiais constituintes dos *scaffolds* e a morfologia dos poros podem influenciar a regeneração do tecido, no entanto, os poros devem apresentar conectividade e orientação adequadas para regeneração e suporte das cargas mecânicas a que estão sujeitos [29].

Uma vez que a porosidade interfere na estabilidade mecânica, é importante encontrar um equilíbrio entre estes dois requisitos, em função das necessidades específicas do tecido a ser substituído. Para cumprir temporariamente a função física do tecido, os *scaffolds* devem apresentar propriedades mecânicas adequadas às pressões a que estão sujeitos salvaguardando os espaços necessários para o crescimento das células e produção da matriz [25, 27, 30]. Neste

sentido, as propriedades mecânicas dos implantes devem ser compatíveis com o tecido ósseo em causa em causa [27].

A arquitectura do *scaffold* determina não só as propriedades físicas como também determina a resposta biológica [31]. No desenvolvimento de *scaffolds* é fundamental ter em conta todos estes requisitos e adaptá-los a cada caso específico de forma a dar resposta às necessidades de cada paciente.

Para além destes aspectos, a engenharia de tecidos tem recentemente apresentado particular interesse no controlo tridimensional do *design* do *scaffold* através da utilização de técnicas de computação que permitem a reprodução da estrutura do osso [29]. Através de tomografia computadorizada ou de ressonância magnética é possível fornecer dados, nomeadamente sobre a forma anatómica, que podem ser utilizados para a produção de implantes de substituição óssea [13, 32]. Como auxiliares de produção destes implantes, as técnicas de PR têm-se revelado úteis no fabrico controlado de formas complexas e de arquitecturas específicas [28, 29].

1.3 Técnicas de fabrico de *scaffolds*

Existem várias técnicas disponíveis e possíveis para a produção de *scaffolds*. As técnicas convencionais utilizadas para o fabrico de estruturas porosas apresentam várias limitações [27, 33]. Para além da dificuldade em controlar com precisão a geometria e a distribuição e tamanho de poros, algumas destas técnicas não conseguem garantir a interconectividade destes [25]. A utilização de solventes orgânicos tóxicos no processo de produção é também uma das desvantagens de algumas destas práticas uma vez que a extracção incompleta destes químicos pode originar efeitos nocivos para as células [33].

As restrições ao nível da forma, a incapacidade de controlar com precisão a macro e micro estrutura e a impossibilidade de reprodutibilidade tornaram-se mais claras com a utilização de técnicas de PR [26, 27, 31, 34]. A utilização destas técnicas torna possível o fabrico de *scaffolds* com a presença de sistemas vasculares artificiais que permitem manter e aumentar o transporte adequado de massa de oxigénio e nutrientes em toda a estrutura [33].

O controlo computadorizado das características arquitectónicas dos *scaffolds* fizeram com que as técnicas de PR, comparativamente com as técnicas convencionais de produção de *scaffolds*, apresentem vantagens para a engenharia de tecidos [31, 33].

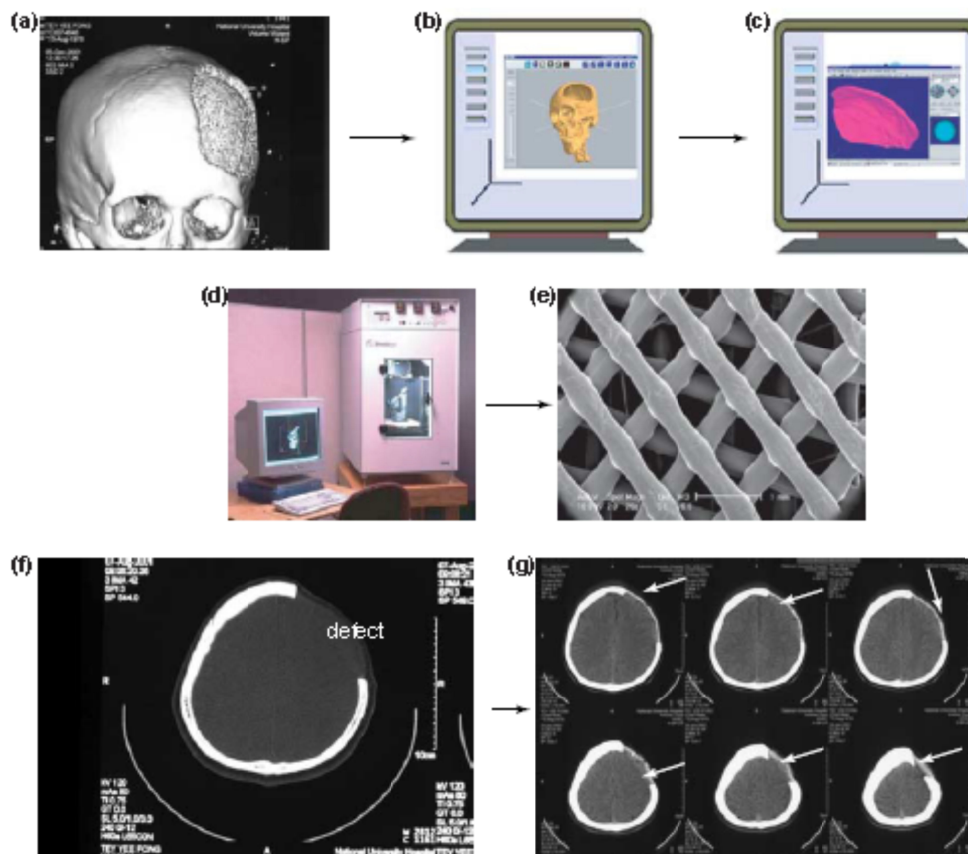


Figura 4. Engenharia de tecidos vs enxertos ósseos específicos produzidos por PR: dados de tomografia computadorizada do defeito ósseo (a) são utilizados para a produção de modelos CAD (b) que são transferidos para a máquina PR (c), que secciona transversalmente o modelo em várias camadas construídas sucessivamente (d) permitindo obter um *scaffold* (e) que reconstrua defeitos ósseos (f e g) [34].

Existem diferentes técnicas de PR, contudo, apresentam como base o mesmo princípio de construção dos modelos 3D. A partir do desenho assistido por computador (CAD), é produzido um modelo virtual que é transportado por um ficheiro para a máquina prototipagem. Através deste ficheiro, o modelo é construído por adição ou subtração de material até ser obtido o modelo físico pretendido. Através de dados de tomografia computadorizada ou de ressonância magnética podem ser construídos modelos CAD personalizados e adequados à reconstrução de tecidos ósseos danificados [35, 36]. A partir destes dados, podem-se produzir *scaffolds* com geometrias específicas adequadas a cada caso clínico (Figura 4) [27, 34, 37-39]. As técnicas de PR oferecem não só a capacidade de produção de *scaffolds* de uma variedade de biomateriais com diferentes propriedades físicas e químicas, como também oferecem um equilíbrio entre custo-benefício que torna estas técnicas adequadas para a fabricação de modelos em quantidade e qualidade interessantes do ponto de vista clínico [28, 34, 40].

1.4 Prototipagem Rápida para o fabrico de *scaffolds*

Inicialmente a PR surgiu como ferramenta de apoio ao desenvolvimento de produtos industriais, com o intuito de dar resposta rápida e precisa às exigências do mercado [39]. A diminuição de custos e de tempo de desenvolvimento dos produtos, bem como o aumento da qualidade desses produtos, reflectiram a necessidade de recurso a tecnologias de fabrico rápido [41-43]. A PR é definida como um conjunto de tecnologias que permitem a produção de modelos físicos tridimensionais a partir de um modelo virtual [39, 41]. Actualmente, há uma tendência para o abandono do nome “Prototipagem Rápida” em detrimento da designação “Processos de fabricação aditiva” ou, para o caso de fabrico rápido de biomateriais, “Biofabricação”. No presente trabalho optou-se por manter a designação PR, a qual é baseada na classificação comercial das várias técnicas de fabrico rápido, uma vez que a bibliografia consultada utiliza esta denominação. Para a obtenção dos modelos físicos, podem ser utilizadas técnicas substractivas ou aditivas [36, 41, 43]. As técnicas substractivas recorrem a processos de fabrico que se baseiam na remoção sucessiva de camadas de material, como é o caso da maquinagem CNC, da fresagem ou do torneamento [41, 43, 44]. Estas técnicas, embora sendo processos de fabrico rápido de protótipos são consideradas como tecnologias tradicionais de prototipagem [41]. Por outro lado, as tecnologias aditivas, que consistem no fabrico de modelos por adição sucessiva de camadas, estão geralmente associadas aos processos de PR como a Estereolitografia (SL), a Fabricação de Objectos por Camadas (LOM), a Sinterização Selectiva por Laser (SLS), a Modelação por Extrusão de Plástico (FDM), a Cura Sólida na Base (SGC) e a Impressão Tridimensional (3DP) [41, 43, 45]. Estes processos podem ainda ser classificados pela forma inicial em que se encontra o material base de construção dos modelos, ou seja em forma líquida, sólida ou em pó [30, 46].

As técnicas de PR têm vindo a assumir um papel importante no auxílio das cirurgias de reconstrução óssea, uma vez que possibilitam o desenvolvimento de modelos com geometrias complexas e irregulares, adequadas às necessidades específicas de cada paciente [2, 5, 22, 47, 48].

1.4.1 Estereolitografia (SL)

A Estereolitografia foi introduzida no mercado pela primeira vez em 1987 pela 3D System e é considerada a técnica pioneira da PR [34, 37].

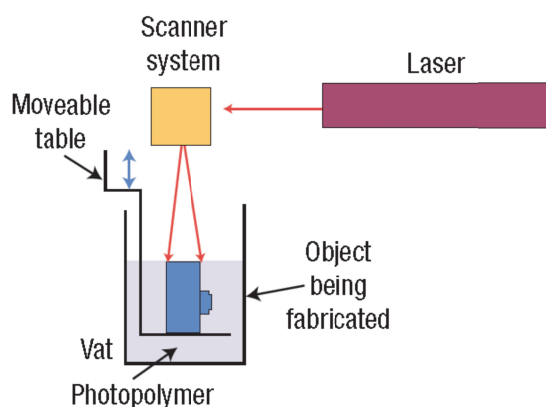


Figura 5. Desenho esquemático do processo SL [30].

A SL é um processo de fabricação de modelos por adição sucessiva de camadas baseada numa tecnologia a laser. Esta técnica consiste no fabrico de modelos através de uma reacção fotoquímica provocada por um feixe laser de raios ultravioleta que fotopolimeriza uma resina líquida situada numa cuba (Figura 5). Após a construção da primeira camada, esta desce na cuba através de uma plataforma elevatória e a partir daí é produzida a camada seguinte por polimerização da resina. Este processo é repetido sucessivamente até se obter o modelo físico pretendido. Como a peça está envolvida num meio líquido, são geradas automaticamente pelo *software* do equipamento, estruturas de suporte sólidos em resina. Para controlar este processo é utilizado um sistema de controlo óptico de varrimento que permite orientar o movimento laser. Após finalizar a construção da peça, o modelo estará completamente imerso na resina líquida não polimerizada. Uma vez que a resina é pouco viscosa, quando for removida a peça, a resina irá escorrer com facilidade por entre os canais vazios que a peça possua. Para conferir maior resistência mecânica, após o processamento, as peças são submetidas a um processo de cura [37].

Esta técnica é um dos processos que confere uma maior precisão dimensional, permite produzir peças com formas complexas com uma boa qualidade de acabamento superficial [37]. Esta técnica tem a desvantagem de requerer estruturas de suporte para a produção de algumas partes constituintes dos modelos. Após a produção da peça, esta técnica requer também algumas etapas de pós processamento para a remoção das estruturas de suporte para o aumento da resistência mecânica (pós-cura) [46] .

Em termos de aplicações, a SL é utilizada no fabrico de protótipos para produzir moldes metálicos para fundição, para testar sistemas de encaixe e para aplicações biomédicas. Neste último campo, tem-se desenvolvido *scaffolds*, com base em suspensões de misturas com HA, com polifosfatos de cálcio e com copolímeros biodegradáveis. Estes *scaffolds* têm demonstrado uma aparência estética superior comparativamente com as técnicas convencionais de fabricação de enxertos ósseos [33, 49]. Uma vez que esta técnica é limitada à utilização de componentes fotopolimerizáveis e uma vez que envolve a realização de etapas de processamento (pós-cura)

que comprometem a resolução do modelo obtido, a SL tem sido utilizada mais especificamente para a criação de modelos anatómicos que ajudem no ensino e planeamento das cirurgias [34].

1.4.2 Fabricação de Objectos por Camadas (LOM)

A Fabricação de Objectos por Camadas é também um dos 4 processos mais antigos da PR e consiste na fabricação de modelos por camadas constituídas por folhas de papel. Os modelos são construídos através da adição sucessiva de camadas de folhas coladas entre si e cortadas, de acordo com a geometria projectada, por um feixe laser transmitido (Figura 6)[37].

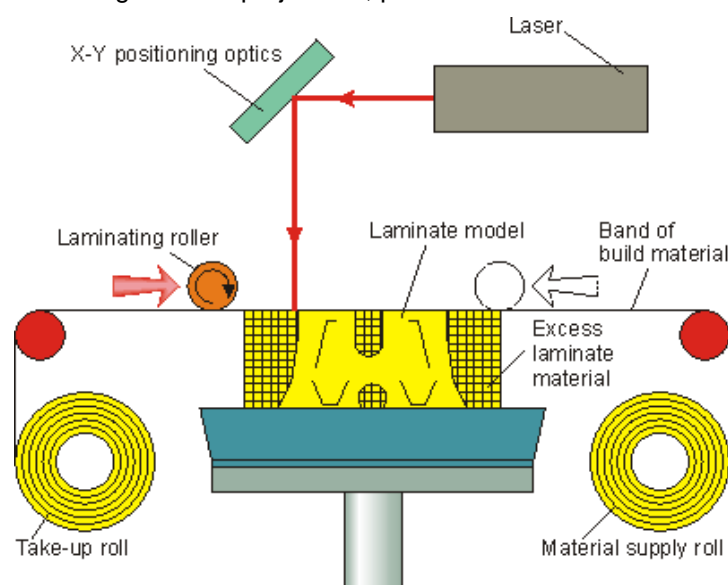


Figura 6. Desenho esquemático do processo LOM [50].

Basicamente, o processo recorre à sucessiva compressão, através de um rolo pré-aquecido (300°C), de papel impregnado com cola termoplástica na sua superfície inferior, promovendo a colagem entre as camadas. Para se obter a geometria pretendida é efectuado um corte da primeira camada, por um feixe laser, de forma a obter o contorno do modelo projectado. Para além do corte que define o contorno da secção do modelo, todo o papel que não faz parte do componente é cortado em quadrados e triângulos para facilitar a remoção do modelo físico construído [37].

Materiais como fibra de vidro, cerâmica e metal, são matérias-primas alternativas ao papel, no entanto como o volume de matéria-prima consumida neste processo é elevada, estes materiais são pouco utilizados. Este processo permite também a produção de modelos de grandes dimensões com precisão dimensional e geométrica superior ao SLS, especialmente no eixo dos xx e yy. Contudo, envolve elevada mão-de-obra no pós-processamento, apresenta falta de precisão no eixo dos zz, e dificuldade em obter espessuras pequenas [37, 46].

Ao nível de aplicações, esta técnica é utilizada para validação conceptual e geométrica de novos produtos. Na área da saúde não foram encontrados registos de utilização desta técnica na

engenharia de tecidos. O volume de matéria-prima consumida, as restrições ao nível geométrico e o pós-processamento podem ser alguns dos factores que levam à exclusão desta técnica nesta área específica e exigente.

1.4.3 Sinterização Selectiva por Laser (SLS)

O processo de sinterização selectiva por laser é comercializado desde 1992 e é um dos processos de PR mais utilizados em desenvolvimento de produto [37].

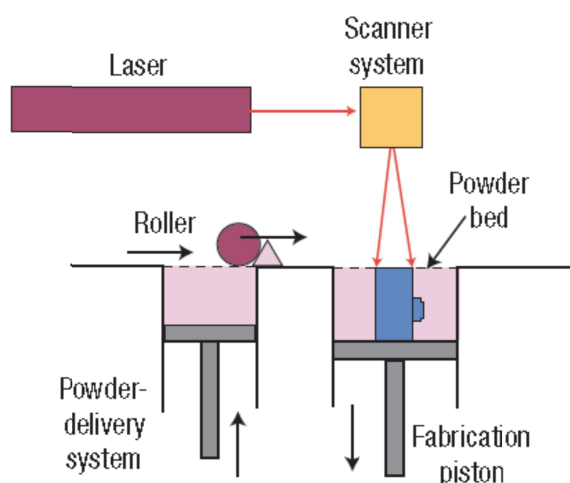


Figura 7. Desenho esquemático do processo de SLS [30].

Com base na utilização de pós (polímeros, compósitos, metais ou ligas metálicas) e através de um varrimento de um feixe laser são construídos estruturas sólidas porosas (Figura 7). Inicialmente é depositada através de um rolo, uma fina camada de pó termofundível sobre uma superfície, que corresponderá à espessura da primeira camada de construção do modelo. De seguida é incidido um feixe laser de CO₂ nas partículas que permitirá a fusão parcial das interfaces dos pós, promovendo assim a aderência do pó na área correspondente à secção da peça. Após definida a secção é introduzida uma nova camada de pó que constitui a secção seguinte do modelo e repete-se o processo de sinterização das várias camadas até se obter o modelo final pretendido. No final são obtidas estruturas porosas semelhantes às estruturas obtidas por compactação de pós seguida de sinterização. O pó de suporte não sinterizado, envolvente ao modelo construído, é retirado e podem ser realizadas operações de acabamento. Como estes modelos podem ser utilizados para reproduções de moldes de silicone, são impregnadas resinas ou tintas que permitem conferir ao modelo impermeabilidade e baixa rugosidade, que facilitam a desmoldagem e conferem às peças um melhor acabamento. Embora os modelos construídos sejam porosos, as características mecânicas destes produtos são superiores aos modelos obtidos por SL [37, 51].

Esta técnica permite a utilização de uma vasta gama de materiais, o que permite adequar as estruturas a diversos tipos de aplicações. Contudo, esta técnica apresenta algumas desvantagens ao nível do acabamento superficial, uma vez que envolve a realização de algumas operações de acabamento, e em geral apresenta uma precisão dimensional inferior à precisão conferida pelos processos SL e LOM [37, 46].

Relativamente às aplicações, esta técnica tem sido utilizada na produção de moldes para ensaios de produção de pré-séries, na produção de protótipos de produtos que permitam a validação conceptual e geométrica e na produção de modelos em cera perdida para o fabrico de peças por fundição [37]. Na engenharia de tecidos, esta técnica tem sido utilizada e tem-se mostrado adequada para a produção tridimensional de implantes de fosfato de cálcio, de titânio e de misturas de HA com polímeros biocompatíveis [25, 38, 39, 51, 52]. *Scaffolds* biocerâmicos produzidos a partir desta técnica demonstraram *in vitro* capacidade de adesão e proliferação celular [51]. Em 1993, a SLS foi utilizada pela primeira vez no fabrico de implantes ósseos cerâmicos, revelando uma avaliação histológica positiva [34]. Para além destas aplicações, esta técnica é também utilizada na execução de modelos de apoio ao planeamento das cirurgias crânio-maxilofaciais, ferramentas de comunicação importantes para o projecto de soluções estéticas e funcionais que possam melhorar o funcionamento físico, psíquico e social do paciente [53].

1.4.4 Modelação por Extrusão de Plástico (FDM)

Modelação por extrusão de plástico é também um dos processos de PR que foi criado em 1988 e consiste na construção de modelos através da extrusão de um material plástico [37].

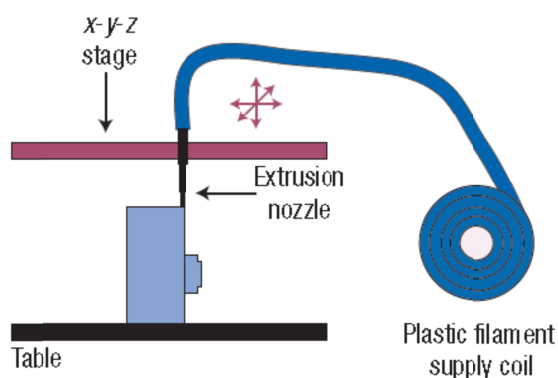


Figura 8. Desenho esquemático do processo de FDM [30].

Da mesma forma que os processos anteriores, esta técnica tem como base o mesmo princípio de adição sucessiva de camadas de material. Através de uma matriz de extrusão, o material polimérico (ABS, PC, ABS-PC, ceras e elastómeros) na forma filamentar é fundido (Figura 8) e depositado formando camadas muito finas que dão forma às várias secções do modelo virtual projectado. Durante a solidificação a camada depositada irá unir-se à camada anterior e repete-se

o processo até se obter o modelo final. Para assegurar a estabilidade das várias camadas construídas é depositado, inicialmente, um material de suporte que no final do processo é retirado através do auxílio de algumas ferramentas ou através de um banho químico [37].

Comparativamente com os processos de PR que têm como base materiais termoplásticos, este processo permite obter melhores resultados ao nível das propriedades mecânicas. É o processo mais lento entre os processos mais utilizados (ex: SLS, SL e 3DP) [37, 46].

Este processo é utilizado no fabrico de protótipos para análise visual e testes funcionais e é uma técnica viável no fabrico de estruturas porosas em engenharia de tecidos [34, 46]. Alguns investigadores utilizaram esta técnica no fabrico de *scaffolds* constituídos por materiais poliméricos (policaprolactona – PCL) e compósitos de polipropileno e trifosfato de cálcio (PP-TCP). *Scaffolds* apresentam adequado tamanho de poros e resistência mecânica, bem como demonstram conformidade para a proliferação de células [25, 30, 54, 55]. A FDM apresenta-se como uma técnica útil na engenharia de tecidos, uma vez que não envolve a utilização de solventes tóxicos. Contudo, esta técnica recorre a temperaturas elevadas (120°C) o que impede a incorporação de moléculas orgânicas com características biológicas [33].

1.4.5 Cura Sólida na Base (SGC)

Cura Sólida na Base é a designação que caracteriza um outro processo de PR que, tal como a SL, utiliza a radiação ultravioleta para o endurecimento de um fotopolímero líquido. Contudo, neste processo a cura dá-se em toda a camada de uma só vez (Figura 9) [41].

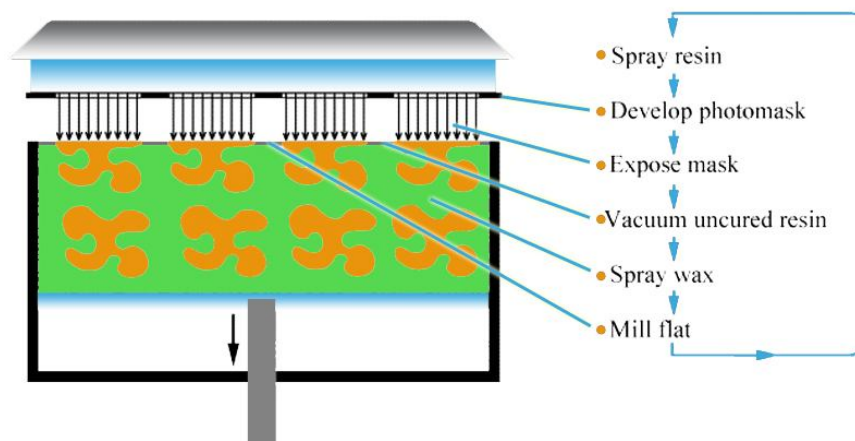


Figura 9. Desenho esquemático do processo SGC [50].

Inicialmente é colocada uma camada fina de resina fotopolimerizável sobre a plataforma de trabalho. Depois a máquina gera uma foto-máscara, semelhante a um *stencil*, com a definição da secção do modelo que se pretende produzir. Esta máscara é impressa numa placa de vidro, por um processo ionográfico semelhante ao das fotocopiadoras. Após a geração da máscara, esta é exposta a radiação ultra-violeta que irá permitir o endurecimento do polímero através da

admissível passagem de luz nas zonas transparentes da máscara que correspondem à camada que se pretende gerar. O material não solidificado é removido através de um sistema de aspiração e é realizada a colocação de cera fundida na cavidade gerada pelo material excedente. Após a solidificação da cera, esta é maquinada de forma a obter-se uma superfície plana, sobre a qual irá construir-se a seguinte camada do modelo projectado. Este processo é repetido sucessivamente para todas as camadas e quando a produção da peça estiver finalizada, esta é imersa num banho solvente para remover o material de suporte (a cera) [41].

Apesar de este processo conferir elevada resistência estrutural e uma contracção reduzida, gera muito desperdício de material e a remoção da cera é dificultado para determinadas geometrias que a peça possa possuir.

Ao nível de aplicações, foram encontrados registos de utilização deste processo no fabrico de *scaffolds* constituídos por polissacarídeos fotopolimerizáveis mas não é considerada uma das técnicas mais utilizadas nesta área [34].

1.4.6 Impressão Tridimensional (3DP)

O processo impressão tridimensional foi inventado e patenteado em 1993 por Michel J. Cima e consiste na construção de modelos a partir de um material em pó e de um agente ligante líquido aplicado por jacto (Figura 10) [2, 37].

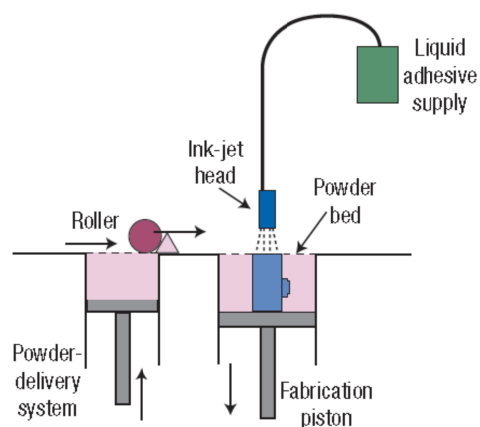


Figura 10. Desenho esquemático do processo de impressão tridimensional [30].

Este processo consiste na preparação de uma camada de pó, através de um rolo, na superfície de trabalho. Após efectuada a distribuição da camada de pó, é depositado selectivamente um ligante que irá promover a ligação entre as partículas na área de secção pretendida. A plataforma elevatória da zona de construção desce, é depositada uma nova camada de pó e é repetido o processo de impressão, por aplicação de ligante, camada sobre camada até se obter o modelo físico pretendido. O ligante depositado permite não só a ligação entre as partículas de pó, como também a ligação entre as várias camadas construídas, conferindo aos modelos impressos a resistência suficiente para serem manuseados. É utilizada uma cabeça de

impressão semelhante às cabeças convencionais das impressoras de jacto de tinta. O pó, não ligado, que se situa na envolvente do material actua como material de suporte e confere a estabilidade dimensional necessária para a construção das várias secções do modelo. Quando terminada a impressão, o modelo em verde depois de seco é retirado da zona de construção, onde se encontra envolvido de pó solto não ligado, e é efectuado o despoeiramento. Esta etapa consiste na remoção do pó em excesso (pó não ligado) das zonas mais intrincadas e concavidades através da aplicação de ar comprimido. Para conferir uma maior resistência mecânica, estes modelos podem ainda ser sujeitos a um tratamento térmico, permitindo fortalecer a ligação entre as partículas [37].

Esta técnica é bastante flexível sob o ponto de vista de materiais que podem ser utilizados (materiais cerâmicos, metálicos e poliméricos). A resolução dos modelos impressos são dependentes não só do ligante e da granulometria de pó utilizada, como também da precisão da deposição das gotículas de ligante e da forma como este irá interagir com as partículas de pó. Mas este processo apresenta algumas limitações relativamente ao acabamento rugoso dos modelos porosos obtidos que, para algumas aplicações, não é desejado, às peças em verde que são relativamente frágeis e ao despoeiramento que é muitas vezes dificultado pelas formas intrincadas que os modelos possam apresentar [34, 37, 46].

Em 1990 foram produzidos os primeiros dispositivos biomédicos através da PR, utilizando o processo de impressão 3D [56]. Impressão 3D é uma das técnicas de PR mais investigadas em engenharia de tecidos, quer no fabrico de implantes densos ou porosos quer em aplicações de libertação de fármacos que permitem dosagens e tempo de transferência controlados [34]. A 3DP tem vindo a apresentar um grande potencial no apoio cirúrgico, pois permite a execução de modelos para planeamento pré-operatório e simulação cirúrgica [42, 57]. Dada a variedade de materiais que podem ser processados por esta técnica, são reportados muitos estudos que viabilizam a aplicação desta técnica em engenharia de tecidos [13, 26, 27, 32, 58].

1.4.7 Comparação das várias técnicas PR

O tipo de aplicação, o material de construção, a resolução, o tempo de fabricação e o custo associado são alguns dos factores que permitem seleccionar o processo de PR mais adequado ao desenvolvimento de um produto [28]. O controlo preciso da arquitectura das peças e a reprodutibilidade das técnicas de PR levaram à utilização benéfica destas técnicas no fabrico de *scaffolds*. Através da Tabela I, pode-se analisar e comparar as técnicas de PR mais utilizadas em engenharia de tecidos.

As técnicas prototipagem de fabrico de modelos a partir de uma base líquida, como a SL é uma das técnicas que confere maior precisão [34].

Tabela I. Factores que diferenciam os processos de PR [2, 25, 33].

Técnica de PR	Vantagens	Desvantagens
SL	Elevada precisão.	Necessidade de fotopolímero; Necessidade de estrutura de suporte; Baixa resistência mecânica dos modelos em verde; Necessidade de pós-processamento.
SLS	Elevadas propriedades mecânicas; Não necessita de estrutura de suporte; Porosidade.	Elevadas temperaturas de processamento; Dificuldade no despoeiramento. Microarquitetura limitada pelo tamanho de partícula.
FDM	Não envolve a utilização de solventes orgânicos; Confere elevada resistência mecânica.	Requer polímeros termoplásticos; Anisotropia mecânica; Elevadas temperaturas de processamento; Requer material de alimentação específico; Necessita de estrutura de suporte.
3DP	Gama ampla de materiais; Não necessita de material de suporte; Porosidade; Baixo Custo.	Baixa resistência em verde dos modelos em verde; Dificuldade no despoeiramento; Microarquitetura limitada pelo tamanho de partícula.

As técnicas de PR de fabrico de modelos a partir de pó permitem produzir estruturas porosas com macro e micro porosidade controladas. Para além da microporosidade, obtida através do espaçamento entre as partículas de pó, estas técnicas permitem controlar a arquitectura dos poros através da manipulação da geometria de ligação das partículas. A rugosidade superficial do *scaffold*, promovida por estas técnicas, é também um aspecto importante na interacção entre as células e a matriz, no sentido em que melhora a adesão celular. Processos, como FDM, que confere ao *scaffold* uma superfície lisa, não conseguem garantir uma forte adesão celular e por isso requerem processos de acabamento que permitam alterar a superfície [25].

Actualmente, alguns estudos têm possibilitado a incorporação de células no processo de construção do *scaffold*, fornecendo a este factores de crescimento de forma a induzir a regeneração do tecido [59]. Uma vez que algumas técnicas de PR, como FDM e SLS, funcionam a temperaturas relativamente elevadas, acima da temperatura de fusão do material, impedem a sua utilização para este tipo de aplicação [28].

A utilização da 3DP apresenta, em alguns casos, a desvantagem de serem utilizados solventes orgânicos. É referido em alguns estudos, a possibilidade de utilização de soluções aquosas como forma de minimizar potenciais riscos de toxicidade adstritos à presença de compostos orgânicos [58]. Comparativamente com outras técnicas, a impressão 3D apresenta não só a vantagem de ser uma técnica bastante simples como também permite processar uma vasta gama de materiais [2].

A PR permitiu a realização de projectos que não eram alcançáveis com as técnicas convencionalmente utilizadas, contribuindo para o desenvolvimento da engenharia de tecidos. Contudo, todos os processos apresentam limitações que tem sido analisadas e melhoradas. De forma a contornar algumas destas limitações, têm surgido técnicas variantes dos processos, acima mencionados, que permitem eliminar alguns dos problemas e adaptar o processo especificamente à aplicação [25].

1.5 Biocerâmicos/Biovidros e a 3DP

Para a execução dos modelos físicos e anatómicos, que permita a reconstrução de defeitos ósseos, é fundamental a utilização de materiais biocompatíveis, habitualmente das classes dos polímeros, dos cerâmicos e dos compósitos [3]. Estes materiais apresentam algumas limitações como a baixa resistência mecânica dos polímeros e dos cerâmicos e o comportamento corrosivo dos metais *in vivo*. *Scaffolds* fabricados a partir de biocerâmicos e biovidros, embora apresentem um comportamento frágil, são mais resistentes que os polímeros e têm sido alvo de inúmeras investigações pelas suas vantagens ao nível do comportamento biológico [60].

Uma vez que este estudo se baseia na utilização de biocerâmicos e biovidros, a revisão bibliográfica que se segue focaliza-se essencialmente nestes materiais.

Nos últimos 30-40 anos os biocerâmicos têm sido dos materiais mais estudados e utilizados. Estes materiais podem ser classificados como bioinertes, bioactivos ou bioreabsorvíveis, consoante a resposta interfacial entre o tecido-vivo e o material [1]. Na classe dos biocerâmicos, os fosfatos de cálcio têm sido usados em aplicações clínicas, sobretudo como enchimento ósseo, dada a sua similaridade química e estrutural com a fase mineral do tecido ósseo [61, 62]. Nesta situação, são classificados como materiais bioactivos e podem apresentar estabilidade mecânica e desenvolver reacções biológicas com o osso receptor, favoráveis à regeneração óssea [3, 21, 61, 62]. Dentro da família dos fosfatos de cálcio, a HA e o trifosfato de cálcio (TCP) surgem como os materiais mais utilizados do ponto de vista clínico.

Estudos recentes [63-68] referem a utilização de HA na fabricação de *scaffolds* por impressão 3D. As estruturas porosas produzidas por esta técnica podem ser semeadas por células do próprio paciente e promover o crescimento celular. Leukers et al. [32, 69] avaliaram histologicamente *scaffolds* de HA produzidos por impressão 3D e observaram proliferação e crescimento celular no interior da estrutura. A porosidade interconectada, o tamanho médio de poros e a morfologia dos *scaffolds* são parâmetros controláveis através da técnica de impressão 3D e constituem-se como alguns dos factores mais importantes que determinam *in vivo* a vascularização e a migração celular para posterior formação de tecido ósseo.

O CAD com base em dados de pacientes faz com que PR seja uma mais-valia na produção de *scaffolds* com características morfológicas controladas. A utilização da impressão 3D para a produção de estruturas porosas de HA e TCP e posterior avaliação da vitalidade celular, mostrou a presença de osteoblastos em ambos os casos [70].

Ao contrário da HA, o TCP é um biocerâmico reabsorvível que se dissolve em meio fisiológico sensivelmente à taxa a que se forma o novo tecido ósseo [1, 62, 63, 71, 72]. A bioabsorção do TCP ocorre em duas etapas básicas: (i) dissolução físico-química e (ii) desintegração em pequenas partículas por ataque químico nos contornos do grão [73]. Num biomaterial que se pretenda reabsorvível é importante que as estruturas sejam constituídas por microporos, que permitam a vascularização e ajudem a degradação do material, macroporos que facilitem a penetração e crescimento do tecido ósseo no biomaterial e espaços intergranulares que contribuam para a degradação [73]. Gbureck et al. [22] obtiveram substitutos ósseos reabsorvíveis, à temperatura ambiente, a partir da impressão 3D de pós de TCP, usando como ligante uma solução de ácido fosfórico. Através da reacção entre o ácido e o cerâmico foram obtidos implantes de fosfato dicálcico di-hidratado (DCPD, Brushite) e de TCP com arquiteturas bem definidas, adequadas para a engenharia de tecidos e com capacidade de serem reabsorvidos *in vivo*. Estudos comparativos de aplicações *in vivo* de enxertos autógenos e enxertos de TCP, produzidos por impressão 3D, demonstraram níveis de regeneração óssea semelhantes [74]. Na impressão as características do pó e do ligante, bem como as etapas de pós-processamento, determinam o desempenho mecânico e químico dos enxertos ósseos fabricados. Na produção de implantes intramusculares e de implantes para reconstrução de defeitos crânio-maxilo-faciais através da impressão 3D foram utilizados pós de TCP [47, 48, 75, 76] e de tetrafosfato de cálcio (TTCP) combinados com β -TCP ou com sulfato de cálcio [77]. Como ligante pode ser usado uma solução aquosa de ácido cítrico [77] ou ácido fosfórico [47, 48, 75, 76].

Para se obter respostas biológicas mais próximas do desejável é importante que, para além de possuírem uma boa resistência mecânica, os materiais sejam biocompatíveis e osteocondutores [78]. Estudos comparativos têm mostrado que a taxa de reabsorção de α -TCP é maior do que a de β -TCP e esta muito maior do que a taxa de reabsorção da HA [71, 72]. Análises histológicas mostraram que o comportamento *in vivo* dos implantes de α -TCP obtidos por impressão 3D era mais próximo dos requisitos do tecido ósseo que o de blocos de HA porosa cortados manualmente [78]. Têm sido utilizados métodos de culturas de células em *scaffolds* para promover uma uniforme distribuição celular, manter a viabilidade das células e fornecer nutrientes para a formação de tecidos. De forma a melhorar esta regeneração *in vivo*, alguns estudos demonstraram que se pode conseguir uma distribuição celular uniforme através da penetração de hidrogel em *scaffolds* de β -TCP produzidos por impressão 3D [79].

Alguns fosfatos de cálcio (CaP) são muito utilizados neste tipo de aplicações pela sua excelente biocompatibilidade mas apresentam uma resistência mecânica limitada. A utilização de polifosfato de cálcio tem permitido o desenvolvimento, por impressão 3D, de *scaffolds* com adequada resistência mecânica à sua utilização em engenharia de tecidos [80].

Na década de 1970 Larry Hench desenvolveu o Bioglass®, um vidro capaz de promover uma excelente ligação com os tecidos hospedeiros, resultando na formação de uma camada de HA carbonatada (HCA) na superfície do biovidro, com uma composição e estrutura semelhantes à da fase mineral do osso [1, 7]. Desde a primeira utilização da composição 45S5 Bioglass® em

pacientes, em 1985 [7], outros vidros bioactivos, bem como compósitos de biovidro, foram alvo de investigação e utilizados em aplicações biomédicas. Recentemente, Bergmann et al. [5] estudaram uma combinação de β -TCP e vidro bioactivo (45S5 Bioglass®) e produziram estruturas ósseas por impressão 3D. Os autores referem que o biovidro se manteve estável durante todo o processo de impressão e concluíram que a composição do vidro pode ser alterada no sentido de melhorar a capacidade de biodegração do implante. Estes foram os primeiros materiais a interagir activamente com os tecidos ósseos, permitindo a sua regeneração com acções biológicas sobre as células [81].

Embora apresentem limitações mecânicas, os vidros bioactivos apresentam características bastante promissoras, como a capacidade de estimular a neovascularização, demonstrando elevado potencial para a engenharia de tecidos [11, 60]. Outros estudos recentes, mostram que, relativamente aos vidros de silicato, à base de borato e de borosilicato, não só têm apresentado taxas de degradação controláveis, como também têm demonstrado a capacidade de aumentar a formação de tecido ósseo. Como o vidro sofre degradação *in vivo* podem ser incorporados na sua composição elementos que favorecem o crescimento ósseo como Cu, Zn, Mn, Sr e B que podem ser libertados a uma taxa biologicamente aceitável [60].

Uma das fragilidades apresentadas pelo biovidro de Hench, relacionada com o seu baixo desempenho mecânico como substituto ósseo, foi em parte colmatada pelo aparecimento do vitrocerâmico A-W (*Apatite-wollastonite*) de Kokubo et al. [1]. Este material apresentou características particulares, combinando bioactividade com bom desempenho mecânico, que possibilitaram a sua utilização em aplicações sujeitas a esforços mecânicos mais exigentes [1]. Suwanprateeb et al. [82] fabricaram espécimes por impressão 3D, a partir de pós de vidro cerâmico de *Apatite-wollastonite* combinado com HA, e mostraram um desempenho mecânico e um comportamento *in vitro* desejáveis.

Os vidros bioactivos produzidos por sol-gel apresentam características mecânicas e morfológicas adequadas que conferem ao material elevado potencial para ser utilizado em aplicações de engenharia de tecidos [10]. Contudo, a produção de *scaffolds* por sol-gel apenas permite o controlo do tamanho de poros no processo. Por outro lado, a PR permite não só produzir *scaffolds* com uma arquitectura pré-definida e reproduzível, como também permite controlar a porosidade, tamanho de poros e distribuição de tamanho de poros [60, 83]. A produção de *scaffolds* com vidro bioactivo através de técnicas de PR tem mostrado potencial mas ainda existe pouca informação sobre a aplicação destes materiais [12, 60].

São notáveis os benefícios do uso de novos materiais. No entanto, são necessários mais estudos no sentido de otimizar o desempenho desses materiais em aplicações clínicas [1]. Face aos resultados da pesquisa bibliográfica efectuada parece claro que os vidros apresentam propriedades relevantes para aplicação em implantes ósseos. A impressão 3D de biocerâmicos e biovidros apresenta-se como uma técnica promissora para a fabricação de implantes personalizados adequados às situações individuais de cada paciente. No âmbito deste trabalho,

para a impressão 3D, foi utilizado como base um novo vidro (T14P43 do sistema $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$), que em estudos anteriores [9] apresentou mineralização e biocompatibilidade *in vitro*. Em meio celular este vidro mostrou favorecer a adesão e proliferação das células, com ausência de toxicidade, revelando-se um material promissor para aplicações biomédicas, designadamente para regeneração óssea.

1.6 Principais requisitos para 3DP

Para uma boa integração de um *scaffold* no corpo humano, um dos principais requisitos é uma adequada composição química do material. É importante que o *scaffold* seja constituído por um material biocompatível que promova uma resposta positiva no local onde será implantado e que promova a regeneração do tecido ósseo. Na impressão 3D é importante que o material base de construção do *scaffold* cumpra um conjunto de requisitos técnicos que permitam o funcionamento correcto de todas as etapas do processo. A selecção do material, o tamanho de partícula, a selecção do elemento aditivo (ligante), a optimização da deposição e o pós-processamento são aspectos relevantes que determinam não só o sucesso do processo de impressão em si como também desempenham um papel importante na determinação das propriedades do modelo final [84].

No âmbito deste trabalho, para a impressão 3D, é importante ter em conta os requisitos do pó que determinam o desempenho do processo. A facilidade de escorregamento entre partículas de pó (fluidez) é um dos parâmetros fundamentais para algumas das fases do processo de impressão, sendo por isso importante controlar o tamanho e a forma das partículas no sentido de obter uma melhor resolução da peça impressa. A estabilidade do pó, a molhabilidade do pó pelo ligante e a reactividade do pó com o ligante, são outros parâmetros fundamentais para a impressão das camadas e para a precisão geométrica final da peça [2].

Uma vez que se trata de uma técnica de processamento a partir de pó, um dos principais requisitos é que o material seleccionado se apresente sob esta forma. Para além disso, é importante que apresente uma elevada fluidez para permitir, não só uma formação de camadas homogêneas, como também facilitar a remoção de pó na fase de despoeiramento. Quanto maior for a fluidez do pó maior será a resolução do modelo impresso [2]. É importante controlar o tamanho a forma das partículas para uma adequada distribuição das partículas na área de trabalho (Figura 11). Quanto menor for o tamanho de partículas maior será a resolução do modelo final, no entanto partículas muito finas tendem a aglomerar, nomeadamente por efeito da humidade, e prejudicam a fluidez do material. Partículas de forma esférica permitem também uma melhor fluidez ao passo que a utilização de partículas facetadas reduz o espalhamento do pó pelo aumento da fricção interna [84].

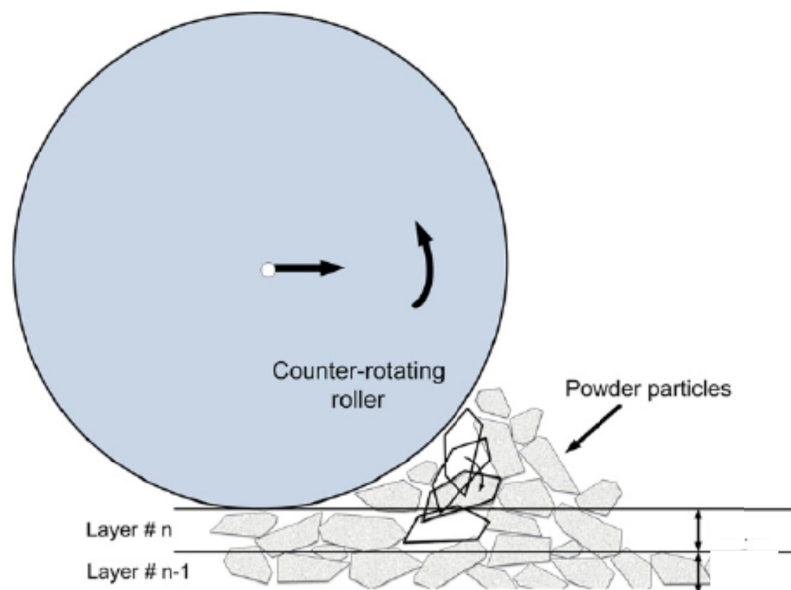


Figura 11. Desenho esquemático da preparação das camadas de pó no processo de impressão 3D [80].

Durante a fase de impressão, a deposição do ligante pode afectar a precisão do modelo a ser impresso. A velocidade com que o ligante é depositado e o impacto gerado pelo contacto das gotas de ligante com o pó podem criar instabilidade entre as camadas de pó que se reflecta na geometria final do modelo impresso. Desta forma, a estabilidade do pó é essencial para conseguir responder às condições de deposição do ligante e evitar alterações dimensionais no modelo impresso. O aumento de densidade de empacotamento da camada de pó pode ser uma solução para o possível deslocamento das estruturas impressas promovido pela interacção das gotas de ligante e o pó [2]. A combinação e interacção entre o pó e ligante são essenciais. O ligante utilizado deve apresentar adequada capacidade de ligação, viscosidade e tempo de secagem para conseguir penetrar nas camadas de pó e assegurar a ligação entre elas [84].

Outro dos factores que pode influenciar a precisão dos modelos impressos é a molhabilidade do pó, promovida pela deposição de ligante. Se o ligante for depositado em elevadas quantidades pode levar à sua dispersão para zonas não desejadas e consequentemente afectar a precisão geométrica do modelo. Por outro lado, se for depositado pouca quantidade de ligante não haverá ligação entre as camadas impressas e diminuirá a resistência mecânica em verde do modelo. Através da definição de diferentes níveis de saturação de ligante para o contorno (*shell*) e interior (*core*) da peça e a espessura da camada é possível controlar a molhabilidade do pó e obter modelos com maior rigor dimensional e resistência mecânica. Para isso é importante estudar as características morfológicas e químicas do pó, a sua reacção com ligante e estabelecer valores de saturação de ligante adequados [2, 85-87].

Durante a fase de impressão são depositadas gotas de ligante no pó. Esta interacção vai promover uma reacção que levará ao endurecimento local da área impressa projectada. Quanto

maior for a reactividade do pó menor será a propagação do ligante e vice-versa. A reactividade do pó irá determinar a dispersão do pó e a consolidação das camadas impressas [2].

Na produção de modelos anatómicos é fundamental obter níveis de precisão bastante elevados. Para a impressão 3D foi verificado que um dos aspectos que influencia claramente este requisito é o tipo de pó e o tipo ligante que é utilizado (Tabela II).

Tabela II. Tabela resumo das diferentes formulações utilizadas para a impressão 3D de *scaffolds* para a engenharia de tecidos.

	Pós	Ligantes	Tamanho de partícula (µm)	Ref.
Polímeros	Polímeros naturais	água (100%)	20-150	[2]
	HDPE	Maltodextrina + polivinilalcool	80-100	[88]
	HDPE	água destilada	100-150	[89]
	PCL/PVA	solução aquosa	150-212 & 106-150	[90]
	PCL/PE oxide	clorofórmio (5% e 20%)	45-150	[2]
	PLLA	clorofórmio (100%)	75-150	[2]
	UHMWPE/Maltodextrina	água (100%)	100-150	[2]
Cerâmicos	TCP	ácido fosfórico (5-30%)	30	[22, 48, 74-76, 91]
	TTCP	ácido fosfórico (10%)	-	[91]
	α-TCP	sulfato condroitine de sódio (5%) + succinato disódico (12%) + água destilada (83%)	10	[78]
	α-TCP	ácido fosfórico (10%)	20-35	[92]
	TTCP/β-TCP ou sulfato de cálcio	ácido cítrico (25%) em água destilada	<100	[77]
	α-TCP/β-TCP	ácido fosfórico (20%)	-	[47]
	CPP/PVA	solvente aquoso (Zb TM 58)	75-150	[80]
	β-TCP	ácido oxálico e ácido tartárico (25%); ácido fosfórico (5–10%);	16; 30	[2]
	TCP/TTCP	ácido fosfórico (10–20%)	10 to 20	[2]
Compósitos	TCP/TTCP/Polímero	ácido fosfórico (10–20%); soluções poliméricas de diclorometano (10–50 wt.%)	10 to 2	[2]
	HA	solução de ligante polimérico à base de água	22	[63]
	HA/Amido	água destilada (94.5%) + glicerina (2.5%) + outros não especificados (3%)	4 & 50	[64]
	HA	politilenoglicol + agente dispersivo	20-100	[65]
	HA	mistura polimérica (Schelofix)	-	[32, 69]
	HA	ligante polimérico (Schelofix) dissolvido em água	-	[67]
	β-TCP/Biovidro	ácido ortofosfórico e pirofosfórico + isopropanol	18, 41 & 92	[5]
	CPP/PVA	Zb 58 + 10 wt.% PVA	75-150	[2]
	HA & Maltrodextrina/VidroA-W	solução aquosa	3-5; 90-100	[82]
	HA/Maltrodextrina	solução aquosa	38-83	[2]

Existem ainda outros aspectos determinantes como a orientação do modelo dentro da impressora 3D, as características geométricas, a espessura das paredes e o pós-processamento que é necessário respeitar [85, 93, 94].

Se para a impressão forem utilizados os parâmetros de configuração de *software* padrão, a cabeça de impressão irá imprimir contornos do modelo um pouco espessos que irão afectar o nível de precisão. Para eliminar este problema, o *software* disponibiliza a função *bleed compensation* que permite orientar a área de construção, impedindo a deposição de gotas para além dos limites de contorno projectados (Figura 12) [93].

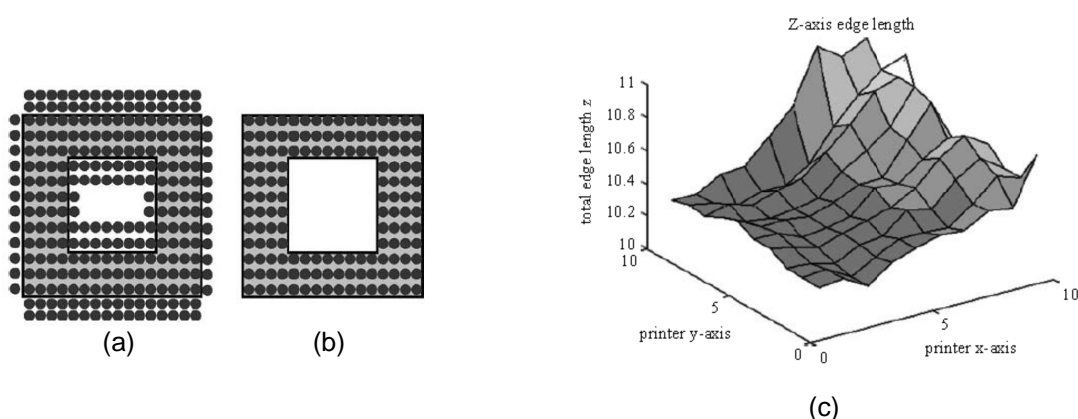


Figura 12. Configurações padrão geram maior imprecisão (a). A activação da função *bleed compensation* permite uma maior precisão (b). Análise dos desvios apresentados segundo o eixo dos zz – impressora 3D [93].

A posição do modelo na área de construção é também um factor que afecta o grau de precisão do modelo impresso. A técnica de impressão 3D revela, em regra, falta de precisão no eixo dos zz, principalmente na extremidade superior do lado direito da área de construção (Figura 12). Através da calibração do processo com a activação do *bleed compensation* é possível diminuir os desvios apresentados nas coordenadas do processo e aumentar a precisão dos modelos impressos [85, 86, 93-95].

Por fim, para conferir maior resistência mecânica aos modelos impressos, são realizadas etapas de pós processamento que consistem em processos de sinterização ou de infiltração de uma solução no modelo. Para tal é importante definir condições de pós processamento adequadas às características específicas das formulações utilizadas [2, 84] .

1.7 Enquadramento do presente trabalho

Este trabalho teve como objectivo elaborar um estudo sobre a caracterização e formulação de pós cerâmicos para utilização em prototipagem 3D, em particular em 3DP, para medicina regenerativa.

Com base na caracterização do pó comercial usado na máquina ZPrinter 310, ZCorporation, foram preparadas novas formulações de composições de fosfatos de cálcio para aplicações bioactivas, na forma de pó de vidro, para impressão 3D e comparação com um modelo padrão.

Foi seleccionado para estudo a composição designada por T14P43 do sistema $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$ e o pó comercial (zp140) (ver Anexo-A), usado na máquina de prototipagem ZPrinter 310, que serviu como padrão para comparação com as formulações testadas neste trabalho.

Tendo em conta os objectivos propostos, desenvolveu-se este trabalho com base na seguinte ordem de tarefas: (i) preparação e fusão das composições vítreas, (ii) preparação e caracterização dos pós para impressão 3D, (iii) produção de *scaffolds* de vidro T14P43 por impressão 3D e (iv) caracterização das amostras de vidro T14P43.

2. Procedimento experimental

Para o desenvolvimento de novas formulações para a prototipagem 3D foi necessário preparar e fundir composições vítreas, preparar e caracterizar pós, bem como seleccionar o ligante mais adequado (secções 2.1 e 2.2). Após a fase de preparação dos pós de vidro e de testes de ligação de pós, foi elaborado um modelo virtual e foi efectuada a prototipagem do modelo padrão e de modelos obtidos a partir de formulações desenvolvidas neste projecto. Os modelos obtidos a partir das formulações desenvolvidas neste estudo foram avaliados e comparados com o modelo padrão e foram seleccionados os parâmetros mais adequados para a impressão de *scaffolds* a partir de pós de vidro T14P43. Para conferir maior resistência mecânica, depois da impressão das amostras de vidro T14P43, efectuaram-se tratamentos térmicos com diferentes condições de sinterização (secção 2.3). Por fim, na secção 2.4, é descrita a caracterização das amostras em verde e sinterizadas. Posteriormente seleccionou-se as condições de tratamento térmico que concedem aos modelos impressos as propriedades mais adequadas à sua aplicação na engenharia de tecidos. Após a selecção, avaliou-se o potencial bioactivo destas amostras por imersão em fluido fisiológico simulado (SBF).

Para além da descrição das várias fases que constituem a metodologia experimental, serão também descritas na secção 2.5 as várias técnicas de caracterização utilizadas ao longo deste trabalho.

O esquema da Figura 13 ilustra o resumo do trabalho experimental realizado, composto por um conjunto de tarefas e de técnicas.

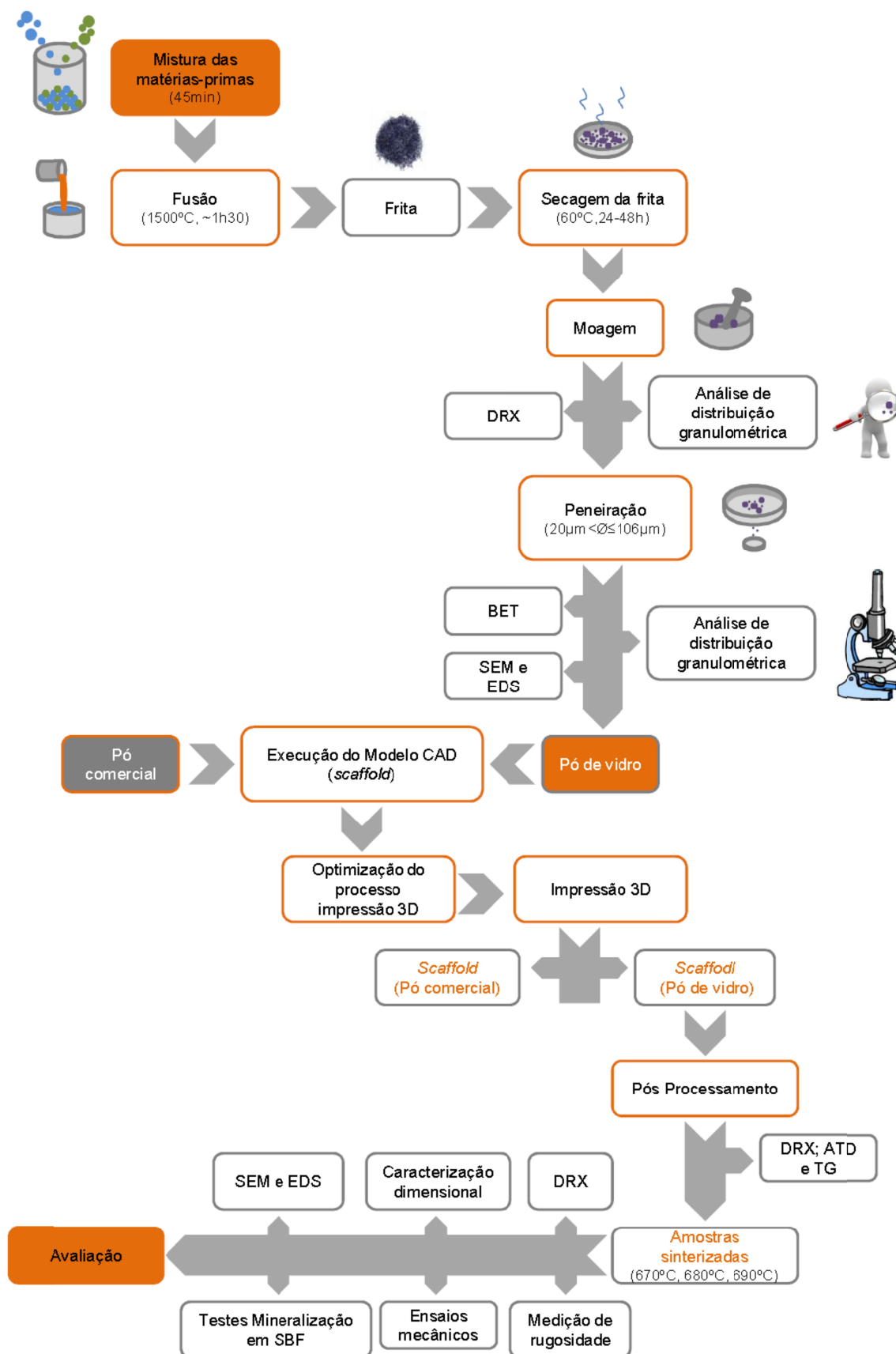


Figura 13. Esquema resumo do procedimento experimental.

2.1 Preparação e fusão das composições vítreas

2.1.1 Materiais

Como já foi referido, para a etapa de preparação e fusão das composições vítreas, foi seleccionado para estudo a composição designada por T14P43 do sistema $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$, correspondente à composição molar 14% TiO_2 -43% P_2O_5 -43% CaO .

As matérias-primas utilizadas para a preparação do vidro foram: óxido de titânio IV da Aldrich (TiO_2) e fosfato de cálcio monobásico monohidratado da Sigma-Aldrich ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$).

2.1.2 Preparação da frita

Tendo em conta a composição em estudo, foi efectuada a pesagem das matérias, procedeu-se à sua mistura com álcool etílico comercial num moinho planetário durante 45min a 180rpm. Após esta etapa, realizou-se a secagem da mistura húmida numa estufa a 65°C durante 24-48horas. Depois da secagem, a mistura foi inserida num cadinho de platina e foi fundida num forno eléctrico (Termolab, controlador FP21 da Shimaden) durante cerca de 1h30min a 1500°C. A carga fundida foi vazada para dentro de água (Figura 14), evitando-se a formação de cristalização superficial, e obteve-se uma frita (~50g ou 100g de vidro) que foi colocada a secar numa estufa a 65°C durante 24horas. De seguida a frita foi analisada por difracção de raios X (DRX) de forma a confirmar a natureza amorfa do vidro.

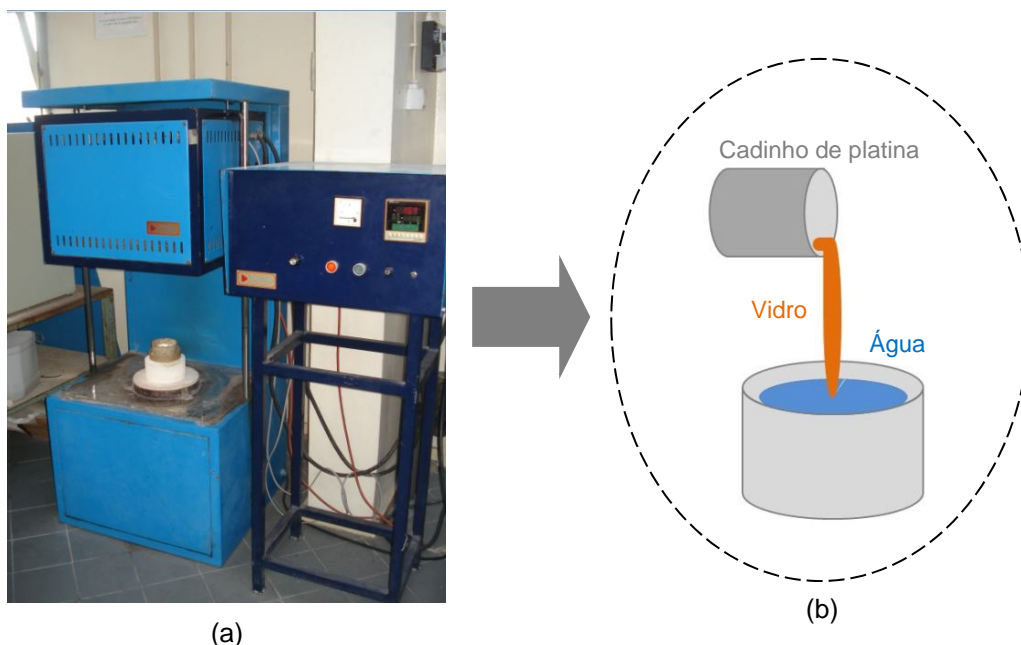


Figura 14. Fusão das misturas preparadas no forno eléctrico (a) e vazamento do vidro fundido para dentro de água (b).

2.2 Preparação e caracterização dos pós para impressão 3D

2.2.1 Preparação dos pós de vidro T14P43

Depois de efectuadas as fusões da composição T14P43, a frita foi triturada com um pilão de aço e foi sujeita a passagem por um peneiro de 1mm. Posteriormente, seguiu-se a moagem da frita através da utilização do moinho Retsch-RM 10 que permitiu a obtenção de pó de vidro (Figura 15 (b)). Cargas de aproximadamente 20g de vidro foram moídas a seco uma vez que a composição utilizada possui uma quantidade considerável de P_2O_5 , o qual sendo muito higroscópico, tem tendência para a formação de ácido fosfórico ($P_2O_5 + 3H_2O \rightarrow 2H_3PO_4$).

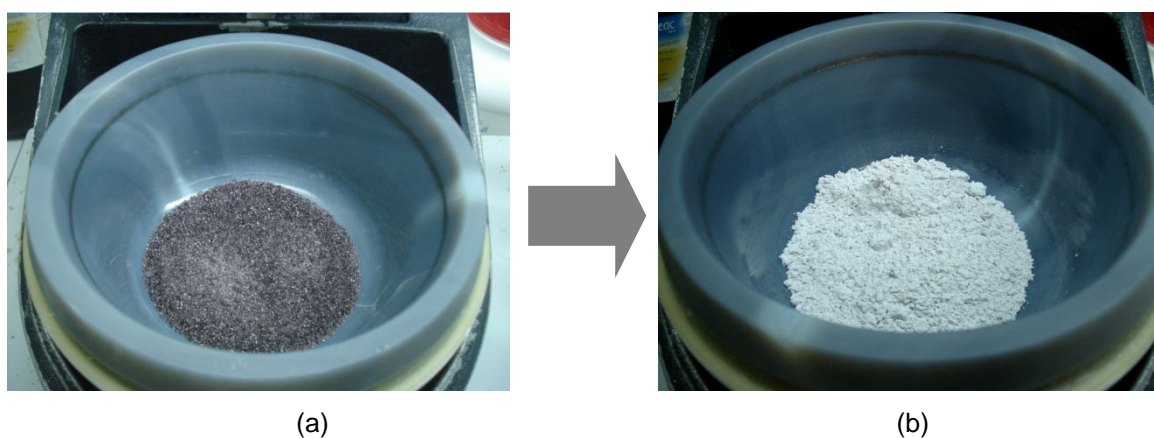


Figura 15. Frita de vidro T14P43 (a) no moinho Retsch-RM 10 (b).

Para se conseguir obter uma distribuição granulométrica idêntica à do pó comercial (ZP140) previamente caracterizado, utilizado na máquina de prototipagem ZPrinter 310, foi efectuado um estudo do tempo de moagem necessário para se obter fracções de pós com o tamanho de partícula desejável. O pó comercial apresenta uma distribuição granulométrica de $\sim 52\mu m$. Foram efectuadas diferentes moagens e foram realizadas análises de distribuição granulométrica a amostras de pó de vidro T14P43 submetidas a diferentes tempos graduais de moagem (1,5; 3; 4,5; 6; 11; 16; 21; 26; 36; 46; 56 e 66 min). Foi efectuado este teste 4 vezes e foram calculadas as médias de tamanho partícula nos vários tempos de moagem e respectivos desvios.

Após a moagem, as partículas de pó foram separadas em duas fracções designadas por finos ($F < 20\mu m$) e grossos ($20\mu m < G < 106\mu m$), utilizando duas telas de $20\mu m$ e $106\mu m$. Após a separação de partículas, a fracção de pós inferiores a $20\mu m$ foi ainda submetida a uma etapa de moagem durante 4h30min de forma a se obter um tamanho médio de partícula mais baixo. As fracções de pós obtidas foram submetidas a análise de distribuição granulométrica. Procedeu-se à determinação da densidade pelo picnómetro de hélio e da área superficial específica pelo método BET. As características morfológicas e a análise química dos elementos presentes nos pós de

vidro T14P43, foram analisadas por Microscopia Electrónica de Varrimento (SEM) e por EDS (Espectrometria de Dispersão de Energias de Raios-X), respectivamente.

2.2.2 Testes de ligação dos pós de vidro T14P43 e de outras formulações

Foram realizados alguns testes de ligação de pós de vidro, de amido de milho e formulações de pó de vidro com amido de milho (Figura 16) utilizando diferentes ligantes (orgânicos, inorgânicos, ácidos e bases). Os testes de ligação consistiram na simulação do processo de impressão através da colocação de pequenas gotas de uma substância líquida em uma camada de pó de vidro. Para a realização destes testes, foram seleccionados diferentes tipos de ligantes: água (rede pública), água destilada, água desionizada, ligante comercial (zb®60), etanol, Coca-Cola, solução de ácido fosfórico 5% em volume, solução de ácido cítrico 5% em volume, solução de ácido cítrico 15%, solução de ácido cítrico 25% em volume, solução de bicarbonato de sódio (0,5g/50ml).

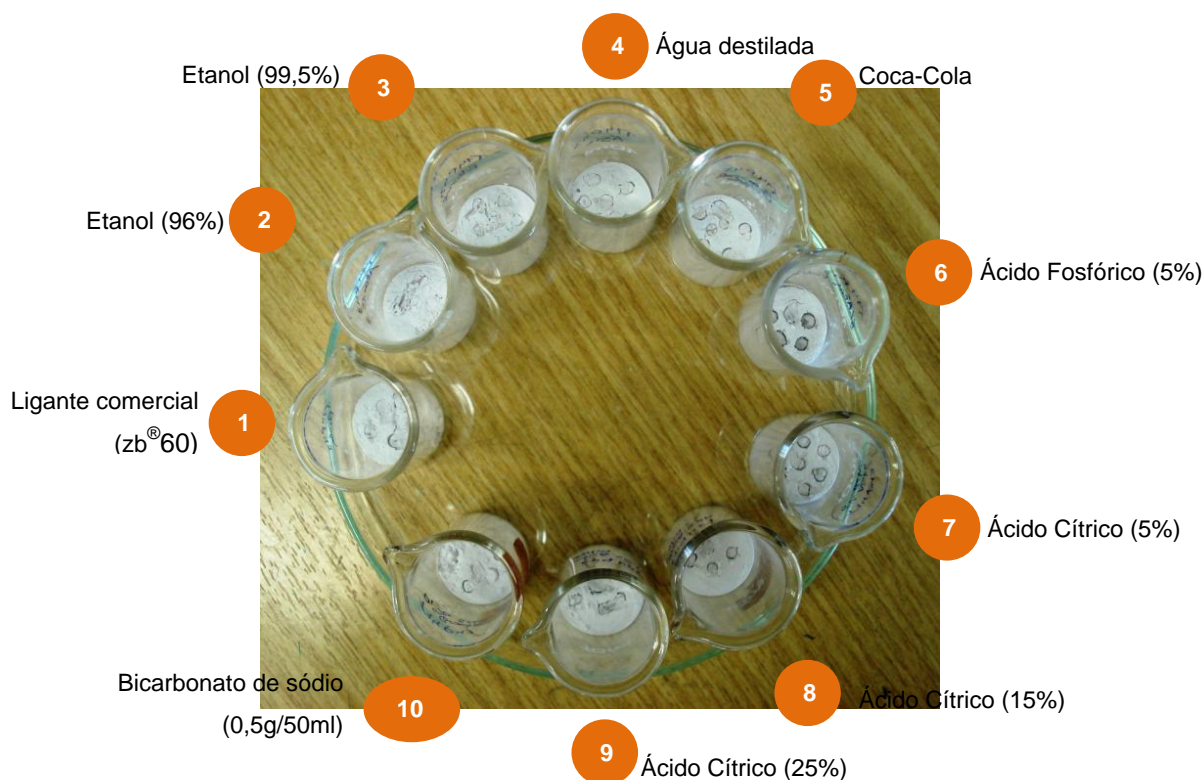


Figura 16. Terceiro teste de adesão de pós utilizando diferentes ligantes.

No total foram efectuados 4 grupos de testes de ligação, nos quais foram avaliados diferentes misturas de pós e ligantes (ver Tabela III).

Tabela III. Tabela resumo dos pós e ligantes utilizados nos testes de adesão

Teste	Pó	Tamanho médio de partícula	Ligante
1º	Vidro T14P43	~8,4µm	Água (rede pública)
	Amido de Milho	~13µm	Água (rede pública)
2º	10% Amido de Milho + 90% Vidro T14P43	-	Água (rede pública)
	20% Amido de Milho + 80% Vidro T14P43	-	Água (rede pública)
	50% Amido de Milho + 50% Vidro T14P43	-	Água (rede pública)
3º	Vidro T14P43	~8,4µm	Ligante (zb®60)
			Etanol (96%)
			Etanol (99,5%)
			Água destilada
			Coca-Cola
			5% Ácido fosfórico
			5% Ácido cítrico
			15% Ácido cítrico
			25% Ácido cítrico
4º	Vidro T14P43 (10% partículas finas e 90% partículas grossas)	Partículas finas ($\leq 20\mu\text{m}$), partículas grossas ($\leq 106\mu\text{m}$ e $> 20\mu\text{m}$).	~1% Bicarbonato de sódio
			Água desionizada
			Água destilada
			5% Ácido cítrico
			15% Ácido cítrico

Posteriormente foi efectuado o despoeiramento do pó envolvente dos compactos de vidro (Figura 17) e procedeu-se à análise morfológica por SEM. Por fim seleccionou-se o ligante mais adequado para utilização na máquina de impressão 3D.



Figura 17. Compactos de vidro obtidos pelo quarto teste de adesão de pós.

2.3 Produção de *scaffolds* de vidro T14P43 por impressão 3D

2.3.1 Impressão 3D

Depois da preparação dos pós de vidro T14P43 e da realização dos testes de adesão foi elaborado um modelo virtual através de *software* CAD (SolidWorks 2010 SP2.1). Este modelo (Figura 18) foi depois convertido para uma extensão STL de forma a poder ser reconhecido pela máquina de prototipagem ZPrinter 310.

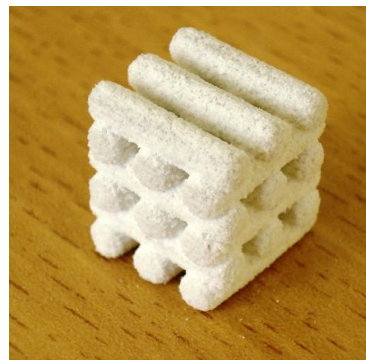
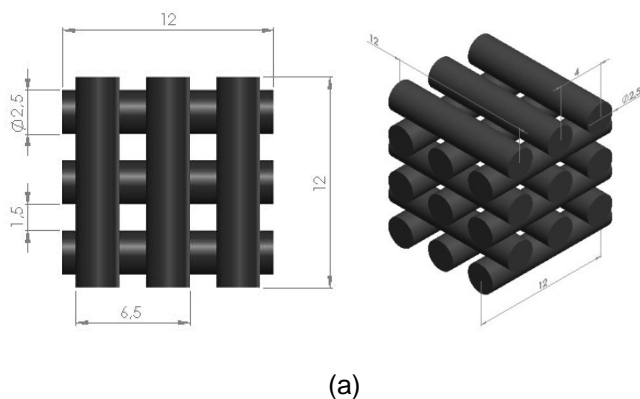


Figura 18. Desenho técnico do modelo CAD (a) desenvolvido e modelo padrão (b).

Este modelo virtual foi impresso com pó comercial (zp140) e com o ligante comercial (zb®60) dando origem a um modelo físico padrão. Este modelo padrão serviu para comparação com os modelos posteriormente impressos a partir das formulações desenvolvidas neste trabalho.

Após a impressão do modelo padrão foi efectuada uma limpeza cuidadosa à máquina de impressão 3D (Figura 19) para evitar possíveis contaminações do pó e ligante comerciais.



Figura 19. Máquina de prototipagem ZPrinter 310 (a) e sua área de impressão (b).

Procedeu-se à impressão dos modelos a partir de pós de vidro T14P43 com partículas de tamanho $<160\mu\text{m}$ e com o ligante seleccionado. Depois da impressão, os modelos foram secos à

temperatura ambiente durante 24h. Procedeu-se, então, ao despoeiramento com o recurso a pincéis e aplicando suavemente ar para remover o pó excedente.

2.3.2 Parâmetros para impressão 3D

Com vista à adaptação do processo de impressão às formulações desenvolvidas neste trabalho foram controlados vários parâmetros técnicos, como: (i) a mistura de pó utilizada, (ii) a saturação de ligante depositado, (iii) o *bleed compensation*, (iv) a espessura de camada de pó impressa e (v) o tipo de ligante.

Os modelos usados neste estudo foram modelos simplificados com duas ou três secções de cilindros (Figura 20).



Figura 20. Modelo virtual com duas (a) e três (b) secções de cilindros.

Foram desenhados quatro conjuntos de testes, para estudo dos parâmetros de impressão, com os seguintes objectivos:

- i) estudos do nível de saturação do *shell* e do *core* e da formulação de pó (modelos com 3 ou 2 secções de cilindros);
- ii) estudos do efeito da espessura da camada e do *bleed compensation* (modelo com 2 secções de cilindros);
- iii) estudos do efeito da espessura da camada e da composição do ligante (modelo com 3 secções de cilindros);
- iv) estudos da composição do ligante (modelo com 3 secções de cilindros).

Para a impressão dos modelos foram utilizadas três formulações de pós de vidro T14P43 com diferentes fracções de tamanho de partículas (Tabela IV).

Tabela IV. Formulações de pós de vidro utilizadas para impressão 3D.

Identificação	Formulação	Tamanho de partículas
G100	100% de partículas grossas	$20\mu\text{m} < G < 106\mu\text{m}$
G90F10	90% de partículas grossas e 10% de partículas finas	$20\mu\text{m} < G < 106\mu\text{m}$ $F < 20\mu\text{m}$
G80F20	80% de partículas grossas e 20% de partículas finas	$20\mu\text{m} < G < 106\mu\text{m}$ $F < 20\mu\text{m}$

i) Primeira fase de testes de impressão:

Para a primeira e segunda impressões foram utilizados modelos com 3 secções de cilindros e para as restantes impressões foram impressos modelos com 2 secções de cilindros. Como ligante foi utilizado inicialmente água desionizada com saturações diferentes no *shell* e *core* do modelo projectado, tendo como base parâmetros estabelecidos pelo *software* para diferentes pós comerciais. À medida que foram impressos modelos foram diminuídas as saturações do ligante e foram comparados e avaliados os modelos. A espessura de camada de pó utilizada para estas primeiras impressões realizadas foi de 0,125mm. A tabela seguinte apresenta um resumo dos parâmetros de impressão utilizados nesta primeira fase.

Tabela V. Parâmetros de processamento utilizados na primeira fase de optimização do processo.

Modelo impresso	Formulação de pó	Espessura de camada (mm)	Nº de camadas impressas	Saturação do <i>shell</i>		Saturação do <i>core</i>	
				Nível de saturação (%)	Rácio de ligante /volume	Nível de saturação (%)	Rácio de ligante /volume
1	G100	0,101	63	100	0,18	100	0,09
2		0,101	63	100	0,23	100	0,08
3	G90F10	0,101	44	55	0,101	55	0,050
4		0,101	44	28	0,051	28	0,025
5		0,127	35	12	0,040	1	0,0008

ii) Segunda fase de testes de impressão:

Foi utilizada uma nova formulação de pó T14P43 (G80F20) e o ligante constituído por água de desionizada. Quanto aos parâmetros de processamento foi activado a função *bleed compensation* para conferir maior precisão na deposição de ligante e foram realizadas alterações de espessura da camada e de saturação de ligante tendo como base os parâmetros do pó comercial ZP250. Para o *core* foi definida a saturação mínima de 0 para todas as impressões realizadas nesta abordagem. A tabela seguinte resume os parâmetros de processamento utilizados para as impressões realizadas nesta fase.

Tabela VI. Parâmetros de processamento utilizados na segunda fase de optimização do processo.

Modelo impresso	Formulação de pó	Espessura de camada (mm)	Nº de camadas impressas	Saturação do <i>shell</i>		Saturação do <i>core</i>	
				Nível de saturação (%)	Rácio de ligante /volume	Nível de saturação (%)	Rácio de ligante /volume
1	G80F20	0,224		6	0,25	0	0
2			19	30	1,17	0	0
3				51	1,898	0	0
4		0,181	24	69	1,989	0	0
5		0,1524	29	83	1,992	0	0

iii) Terceira fase de testes de impressão:

Foi acrescentado ao modelo virtual uma secção de cilindros e foram impressos modelos com diferentes espessuras de camada e correspondentes saturações máximas de ligante para o *shell* admitidas pelo *software*. Para o *core* foi utilizada a saturação mínima de 0 e foi mantida a função *bleed compensation*. Foram impressos modelos com mistura de pó de 80% de partículas grossas e 20% de partículas finas e foram utilizadas novas formulações de ligante de água desionizada e álcool (96%). Após a impressão, os modelos foram analisados e comparados, e foram seleccionados os parâmetros de processamento mais adequados para a impressão de modelos de pó de vidro T14P43. A seguinte tabela resume as impressões realizadas nesta fase.

Tabela VII. Parâmetros de processamento utilizados na terceira fase de optimização do processo.

Modelo impresso	Ligante	Espessura de camada (mm)	Nº de camadas impressas	Saturação do <i>shell</i>		Saturação do <i>core</i>	
				Nível de saturação (%)	Rácio de ligante /volume	Nível de saturação (%)	Rácio de ligante /volume
1	Água desionizada	0,152	42	83	1,992	0	0
2		0,165	39	77	2	0	0
3		0,181	35	69	1,992	0	0
4	Água desionizada (97%) + Álcool (3%)	0,165	39	69	1,989	0	0
5		0,181	35	69	1,992	0	0

iv) Quarta fase de testes de impressão:

Após seleccionados os parâmetros (espessura e saturação de ligante) mais adequados para a impressão das formulações desenvolvidas neste trabalho, foram impressos modelos com diferentes ligantes preparados de água desionizada (100%) e água desionizada com várias quantidades de álcool (Tabela VIII) e avaliaram-se dimensionais de cada modelo comparativamente às dimensões CAD projectadas.

Tabela VIII. Parâmetros de processamento utilizados na quarta fase de optimização do processo.

Modelo impresso	Ligante	Pó
1	zb56	zp140
2 e 3	Água desionizada (100%)	Vidro T14P43 G80F20
4 e 5	Água desionizada (97%) + Álcool (3%)	
6 e 7	Água desionizada (90%) + Álcool (10%)	
8 e 9	Água desionizada (80%) + Álcool (20%)	
10 e 11	Água desionizada (70%) + Álcool (30%)	
12 e 13	Água desionizada (60%) + Álcool (40%)	
14 e 15	Água desionizada (50%) + Álcool (50%)	
16 e 17	Água desionizada (40%) + Álcool (60%)	
18 e 19	Água desionizada (30%) + Álcool (70%)	

Para além disso foi também impresso um modelo com pó e ligante comercial e foram comparados os desvios dimensionais com os modelos impressos com pó de vidro T14P43. Para cada tipo de ligante foram impressos 2 modelos e foi efectuada uma média correspondente ao desvio. Para a medição dos desvios, foram retiradas fotografias macro a uma escala de 1:2, com uma máquina fotográfica Canon EOS 550D com uma lente de distância focal de 300mm. Através destas fotografias, foram medidos os desvios correspondentes à largura e altura de cada um dos três cilindros posicionados na primeira secção do modelo. Através das fotografias dos modelos foram medidos o número de pixels correspondentes à largura e altura dos cilindros e, através inserção de uma régua próxima dos modelos, foi possível converter a unidade pixel para mm de forma a serem calculados os desvios relativamente às dimensões CAD projectadas. Através dos desvios obtidos seleccionou-se o ligante mais adequado à impressão 3D de pós de vidro T14P43.

2.3.3 Pós-processamento: sinterização

Após a definição dos parâmetros de impressão 3D, foi efectuado um estudo dos parâmetros de sinterização a utilizar para conferir aos modelos impressos uma maior resistência mecânica. Recorreu-se à análise térmica diferencial (ATD) e à termogravimétrica (TG) realizadas com pó de vidro T14P43 e à dilatométrica realizada com provete cilíndrico, obtido por impressão 3D (10mm de diâmetro x 20mm de comprimento). Com base nos resultados destas análises foram

estabelecidos programas de sinterização. Submeteram-se amostras cilíndricas a vários tratamentos térmicos em forno tubular. Após a realização de DRX às amostras sinterizadas seleccionaram-se três temperaturas de sinterização: 670°C, 680°C e 690°C e efectuaram-se os tratamentos térmicos.

2.4 Caracterização de amostras de vidro T14P43

Para a caracterização das amostras de vidro T14P43, foram impressos modelos de forma cúbica (10mm de aresta) que foram submetidos a diferentes tratamentos térmicos. Estas amostras foram caracterizadas por várias técnicas de análise de materiais: caracterização física, mecânica e *in vitro*.

2.4.1 Caracterização dimensional, superficial, morfológica e cristalográfica

Com recurso a modelos cúbicos foi determinada a densidade obtida a partir do quociente entre a massa e o volume, equação 1, utilizando um micrómetro de precisão de $\pm 0,005\text{mm}$ e uma balança digital com precisão de $\pm 0,001\text{g}$.

Foi também determinada a percentagem de perda de massa e a percentagem de retracção das amostras através das medidas de massa e das dimensões.

Foram observadas as características morfológicas e efectuada análise química dos elementos presentes das amostras à superfície e à fractura.

A percentagem de absorção de água (%AA) foi determinada através da medida da massa das amostras em diferentes condições, a seco (P_s) e em húmido (P_h), segundo a equação:

$$\% AA = \frac{(P_h - P_s)}{P_h} \quad (\text{Eq. 1})$$

A porosidade aparente foi determinada através do método de Arquimedes determinado o peso aparente (P_a) da amostra quando mergulhada em água. Através da equação 2 foi calculada a porosidade aparente (PA).

$$PA = \frac{(P_h - P_s)}{(P_h - P_a)} \quad (\text{Eq. 2})$$

2.4.2 Propriedades mecânicas

Amostras tratadas durante 1h a diferentes temperaturas (670°C, 680°C e 690°C) foram submetidas a ensaios de compressão.

Para a realização dos ensaios mecânicos, as amostras foram polidas em todas as faces tendo-se utilizado lixas com diferentes *mesh* (P#2400, P#1200, P#800). Após a realização dos ensaios mecânicos, as superfícies de fractura resultantes foram observadas por SEM.

2.4.3 Testes de mineralização em SBF

Com vista à realização de testes de mineralização em SBF foram impressas amostras cilíndricas de 10mm de diâmetro e 10mm de comprimento.

As amostras foram sujeitas a um acabamento superficial nos 2 topos dos cilindros. Deste modo, as amostras foram polidas a seco com 3 lixas (P#180, P#800 e P#1200) de granulometria sucessivamente mais finas utilizando uma polidora Struers RotoPol-11 com uma velocidade máxima de 150rpm. De seguida, foi medida a rugosidade das superfícies polidas das amostras.

Foram realizados os estudos de mineralização, colocando as amostras imersas em SBF (Tabela IX).

Tabela IX. Concentração iónica e pH do SBF e do plasma humano [96].

	Ião	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	pH
Concentração iónica (mM)	SBF	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5	7,41
	Plasma Humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5	7,20 – 7,40

Segundo o procedimento proposto por Kokubo e Takadama [96], preparou-se o SBF com água desionizada utilizando os reagentes apresentados na Tabela X e introduzidos pela ordem referida.

Tabela X. Ordem, fórmula química, marca e quantidade dos reagentes utilizados para preparação de 1 litro de SBF [96].

Ordem	Reagente	Marca	Quantidade (mg)
1	NaCl	Panreac	7,996
2	NaHCO ₃	Riedel-de Haën (Sigma-Aldrich)	0,350
3	KCl	Riedel-de Haën (Sigma-Aldrich)	0,224
4	K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	Calbiochem	0,228
5	MgCl ₂ ·6H ₂ O	Riedel-de Haën (Sigma-Aldrich)	0,305
6	HCl(1M)		~80% de 40ml
7	MgCl ₂ ·6H ₂ O	Fluka	0,548
8	CaCl ₂ ·6H ₂ O	Panreac	0,071
9	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃	Merck	6,057

As amostras utilizadas nestes ensaios tinham 7,2mm de altura e 8mm de diâmetro. Segundo Kokubo [96], o volume de SBF recomendado num ensaio de com SBF para amostras porosas deve ser superior ao volume mínimo calculado (V_s), equação 3.

$$V_s = \frac{S_a}{10} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que: S_a = área superficial aparente (mm²)

Nestes ensaios foram utilizados 30ml de SBF esterilizados (10min, radiação UV).

Utilizaram-se frascos de plástico esterilizados (15min, radiação UV). Para a realização destes testes, foram imersas amostras durante 1h, 5h, 1, 3, 7, 14 e 21 dias à temperatura de 37°C.

Após o término de cada tempo de imersão, os provetes foram analisadas por DRX e observadas por SEM/EDS (topos polidos e superfície cilíndrica não polida).

Para de cada tempo de imersão foi determinado o pH da solução SBF utilizando um medidor de pH Orion modelo 420A. As amostras de SBF foram guardadas a ~-4°C para posterior análise por ICP (Espectroscopia de emissão por plasma induzido acoplado) de forma a se obter concentrações iônicas dos elementos presentes na solução.

2.5 Técnicas de caracterização

Para desenvolvimento do processo experimental, foi fundamental a utilização das seguintes técnicas de caracterização: (i) análise cristalográfica, (ii) análise de distribuição granulométrica, (iii) medição da densidade do pó, (iv) análise microestrutural, (v) medição da rugosidade, (vi) área superficial específica, (vii) análise térmica diferencial e termogravimetria, (viii) análise dilatométrica, (ix) ensaios mecânicos e (x) espectroscopia de emissão por plasma indutivo.

2.5.1 Análise cristalográfica

A análise cristalográfica do vidro T14P43 foi efectuada através de DRX, utilizando um difractómetro Rigaku Geigerflex Dmax-C, equipado com monocromador curvo de grafite, com radiação CuK α . Os ensaios de DRX foram efectuados com um ângulo de varrimento entre 10-50° (2 θ), com um tempo de passo de 0,02s e uma velocidade de varrimento de 3.00 (2 θ /s).

2.5.2 Análise de distribuição granulométrica

Com vista a avaliação do tamanho e distribuição granulométrica dos pós de vidro, foi utilizado o equipamento Coulter LS Particle Size Analyser 230.

2.5.3 Medição da densidade do pó

O equipamento utilizado para a determinação da densidade real do pó de vidro T14P43 foi o picnómetro de hélio da Micromeritics, modelo Accupyc 1330.

2.5.4 Análise microestrutural

Para a observação de características morfológicas e análise química dos elementos, foi utilizado um microscópio electrónico de varrimento (SEM) da Hitachi, modelo SU 70, equipado com espectrometria de dispersão de energias de Raios-X (EDS) da Bruker, modelo Quantax 400.

Para análise dos pós de vidro e das amostras impressas obtidas, utilizou-se fita-cola de dupla face de carbono. As amostras foram recobertas com um filme de carbono através do equipamento Emitech K950.

2.5.5 Medição da rugosidade

Para a medição de rugosidade das amostras de vidro T14P43, foi utilizado o rugosímetro Mahr Perthometer M1, percorrendo 5,6mm na superfície das amostras cúbicas sinterizadas para os ensaios mecânicos e 1,75mm na superfície dos topos das amostras cilíndricas para os testes de mineralização. Para as amostras cúbicas foram efectuadas 6 medições para a face de topo e 6 medições para uma das faces laterais em cada amostra, em vários sentidos. Para as amostras cilíndricas foram efectuadas 9 medições em diferentes sentidos num dos topos polidos em cada amostra.

2.5.6 Área superficial específica

A área superficial específica dos pós de vidro foi determinada por adsorção física de gás azoto pelo método BET (isotérmica de Brunauer-Emmett-Teller) no equipamento Micromerites – Gemini 2370 V5.

2.5.7 Análise térmica diferencial e termogravimétrica

Nas análises térmica diferencial (ATD) e termogravimétrica (TG). Foi utilizado o equipamento Setaram Labsys DTA/TG-DSC, com uma velocidade de aquecimento de 5°C/min, desde 55°C até 1200°C.

2.5.8 Análise dilatométrica

Nos ensaios de dilatométrica foi usada uma amostra, impressa, cilíndrica de 10mm de diâmetro e 10mm de comprimento. O dilatómetro era do tipo horizontal (Bahr Thermo Analyse).

2.5.9 Ensaios mecânicos

Na realização de ensaios mecânicos foi usada uma máquina de ensaios universal Shimadzu, modelo AG-IS 10kN.

2.5.10 Espectroscopia de emissão por plasma indutivo

De forma a determinar analiticamente a concentração dos elementos (Ca, P e Ti) presentes na solução fisiológica simulada foi efectuada a caracterização por ICP num espectrómetro Jobin-Yvon JY70 Plus.

3. Resultados e Discussão

Neste capítulo, são apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos na fase de preparação e caracterização dos pós de vidro T14P43 (secção 3.1), na fase de produção de *scaffolds* de vidro por impressão 3D (secção 3.2) e na fase de caracterização dos impressos obtidos neste trabalho (secção 3.3).

3.1 Preparação e caracterização dos pós para impressão 3D

3.1.1 Preparação de pós

Após a preparação e fusão das composições vítreas procedeu-se à preparação dos pós de vidro T14P43.

Uma das vantagens do processo de impressão 3D incide na variedade de materiais que podem ser processados por esta técnica. Para o sucesso da impressão 3D de novos materiais é importante não só o controlo e calibração do processo de impressão, em si, mas também a utilização de uma formulação adequada do pó. A formulação de pós, a forma e tamanho de partículas são alguns dos factores importantes que influenciam e determinam várias etapas do processo. Neste estudo foi usado como referência o pó comercial (zp140) utilizado na máquina de prototipagem. A análise do difratograma a este pó e ao pó de vidro T14P43 mostra tratar-se de estruturas cristalográficas distintas (Figura 21). O pó (zp140) é constituído por sulfato de cálcio hidratado ($\text{Ca}(\text{SO}_4)(\text{H}_2\text{O})_{0,5}$) enquanto o pó T14P43 é amorfo.

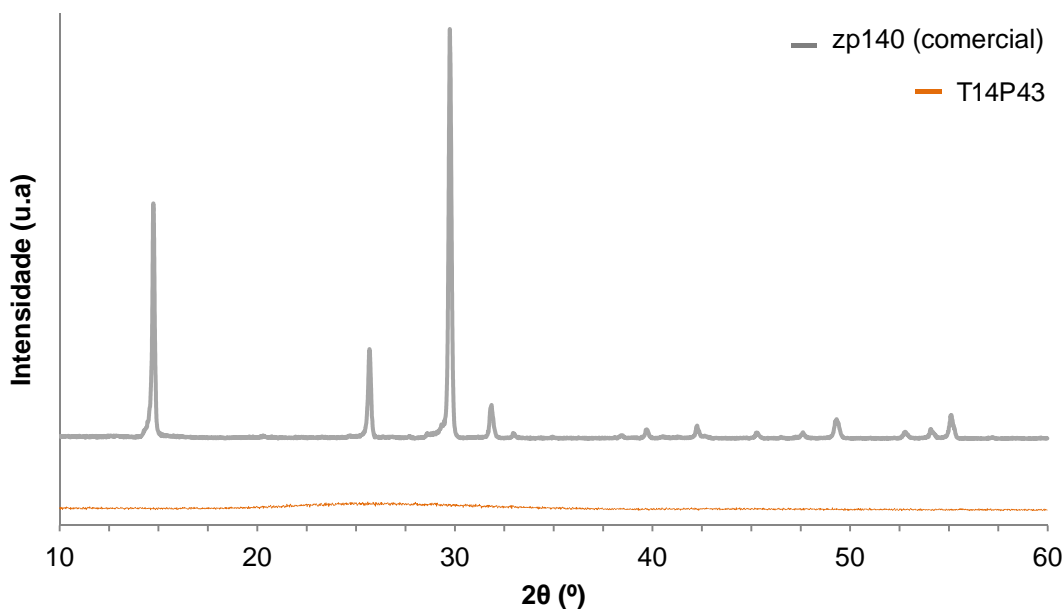


Figura 21. Difratograma do pó comercial e do pó de vidro T14P43.

Para garantir uma adequada definição das camadas de pó, compactação das partículas e fluidez foi importante controlar a distribuição granulométrica do pó. O pó comercial apresenta um tamanho de partícula médio de $\sim 52\mu\text{m}$ (Figura 22). Ao analisar a distribuição granulométrica do pó comercial verifica-se que a maior % de volume de partículas se encontra no intervalo de $20\mu\text{m}$ a $100\mu\text{m}$ (Figura 22). Contudo, o pó padrão apresenta também uma pequena % de volume de partículas finas (~ 10 a 20%) compreendidas entre $0,04\mu\text{m}$ e $5\mu\text{m}$. Trata-se, portanto, de uma distribuição bimodal.

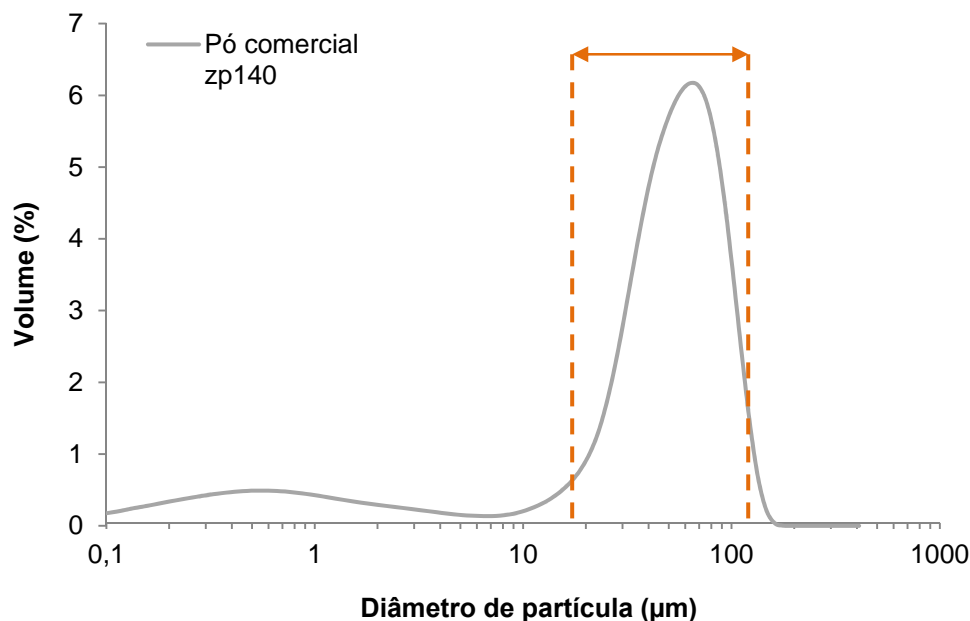


Figura 22. Distribuição de tamanho de partículas do pó comercial (zp140).

Para se conseguir obter uma distribuição granulométrica idêntica à deste pó, foi efectuado um estudo de moagem de forma a analisar-se qual o tempo necessário à obtenção de fracções de pós com este tamanho de partículas. Na Figura 23 observa-se que à medida que o tempo de moagem aumenta, o tamanho médio de partícula diminui. O intervalo de tempo de moagem que permite uma maior aproximação do tamanho de partícula pretendido é entre os 11min e os 16min.

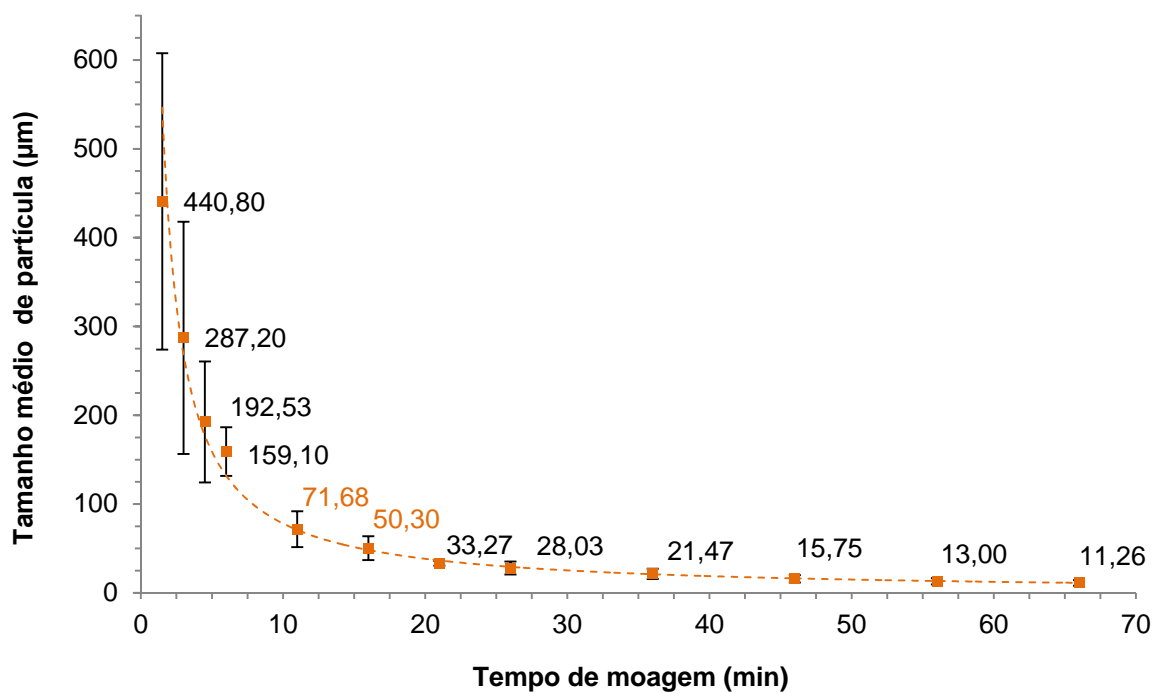


Figura 23. Tamanho médio de partícula versus tempo de moagem (pó de vidro T14P43).

Foi efectuada uma separação das partículas de T14P43 em duas fracções: i) Grossos ($20\mu\text{m} < G < 106\mu\text{m}$) com um tamanho médio de partículas de $\sim 59\mu\text{m}$ e Finos ($F < 20\mu\text{m}$) com um tamanho médio de partículas de $\sim 8,50\mu\text{m}$ (Figura 24). Após esta separação, a fracção de partículas finas foi submetida a maior tempo de moagem. O tamanho de partícula médio mais pequeno que se conseguiu obter foi de $4,602\mu\text{m}$. O aumento de tempo de moagem revelou-se ineficaz a partir de 4h de moagem, uma vez que o tamanho de partícula se manteve constante.

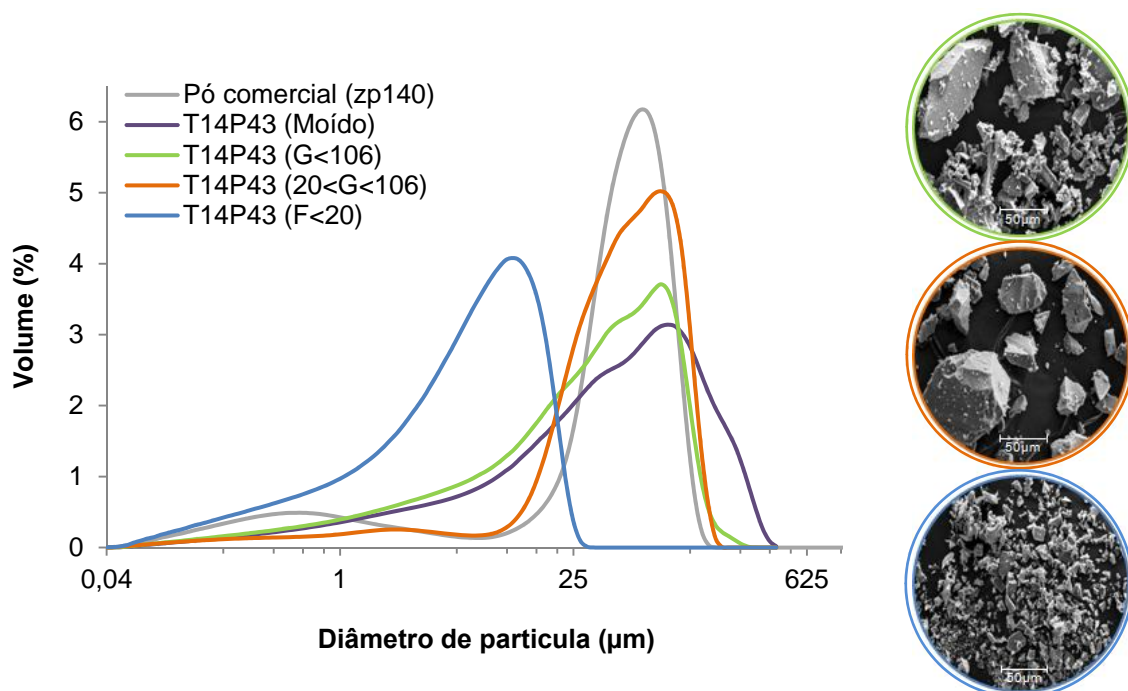


Figura 24. Distribuição granulométrica do pó comercial (zp140) e de vidros preparados.

Através das micrografias (Figura 24) observa-se os diferentes tamanhos de partículas em cada uma das fracções.

O tamanho das partículas afecta o processo de impressão e consequentemente a resolução do modelo impresso. Quanto menor for o tamanho das partículas, maior será a resolução do modelo [84]. Pós finos permitem obter maior resolução, no entanto as partículas de pó de vidro (inferiores a 20μm) tendem a aglomerar dada a higroscopicidade deste material. Esta tendência prejudica a fluidez do material impedindo a utilização exclusiva de partículas finas. Por outro lado a fracção partículas de partículas grossas, não só representa uma maior percentagem de volume de partículas médio, como também apresenta uma melhor fluidez, tornando-se mais adequado para a formação de camadas de pó homogêneas durante o processo de impressão 3D. Partículas maiores facilitam a migração de fluidos, através das camadas de pó, o que permite promover uma melhor ligação entre as camadas [2]. Contudo, a adição de partículas finas permite uma melhor compactação das camadas preenchendo os espaços vazios entre as partículas grandes.

Face à tendência dos pós finos do vidro T14P43 para aglomerar, prejudicando o processo de preparação das camadas de pó para a impressão, foram testadas impressões com apenas partículas grossas e foram formuladas novas composições incorporando partículas finas. Para a impressão 3D foram testadas três formulações de pós: (i) 100% de partículas grossas (G100), (ii) 90% partículas grossas e 10% de partículas finas (G90F10) e (iii) 80% de partículas grossas e 20% partículas finas (G80F20).

Tais formulações de pó de vidro tornaram possível a obtenção de uma distribuição granulométrica idêntica à do pó padrão, em particular a formulação G80F20 que apresenta um tamanho médio de partícula de $\sim 52\mu\text{m}$, igual à do pó padrão (Figura 25).

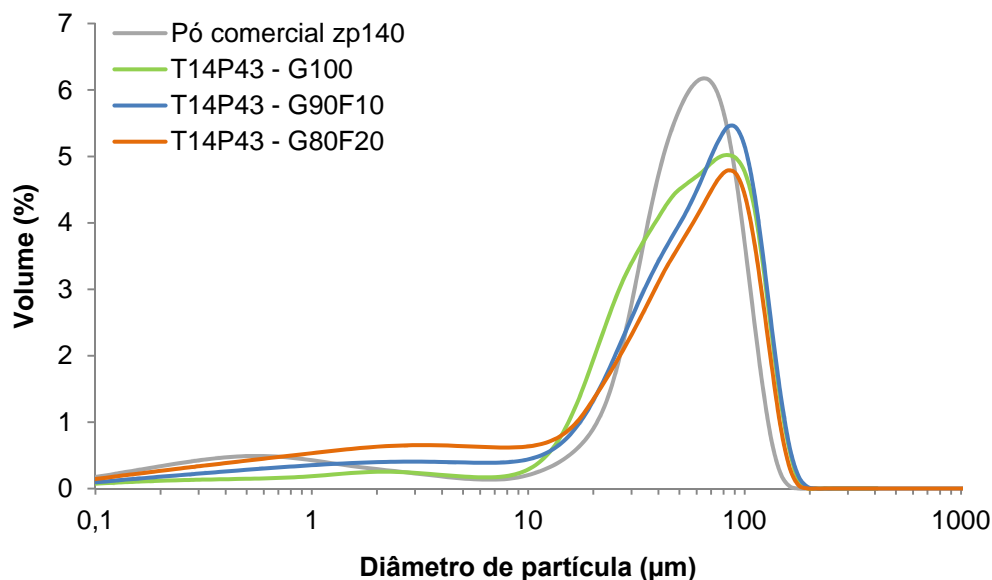


Figura 25. Distribuição de tamanho de partículas do pó comercial e o pó de vidro em diferentes formulações.

O pó de vidro T14P43 apresenta uma densidade média de $2,740\text{ g/cm}^3$ e as formulações G90F10 e G80F20 apresentam uma área superficial específica de $7,5885\text{m}^2/\text{g}$ e $10,5505\text{m}^2/\text{g}$, respectivamente.

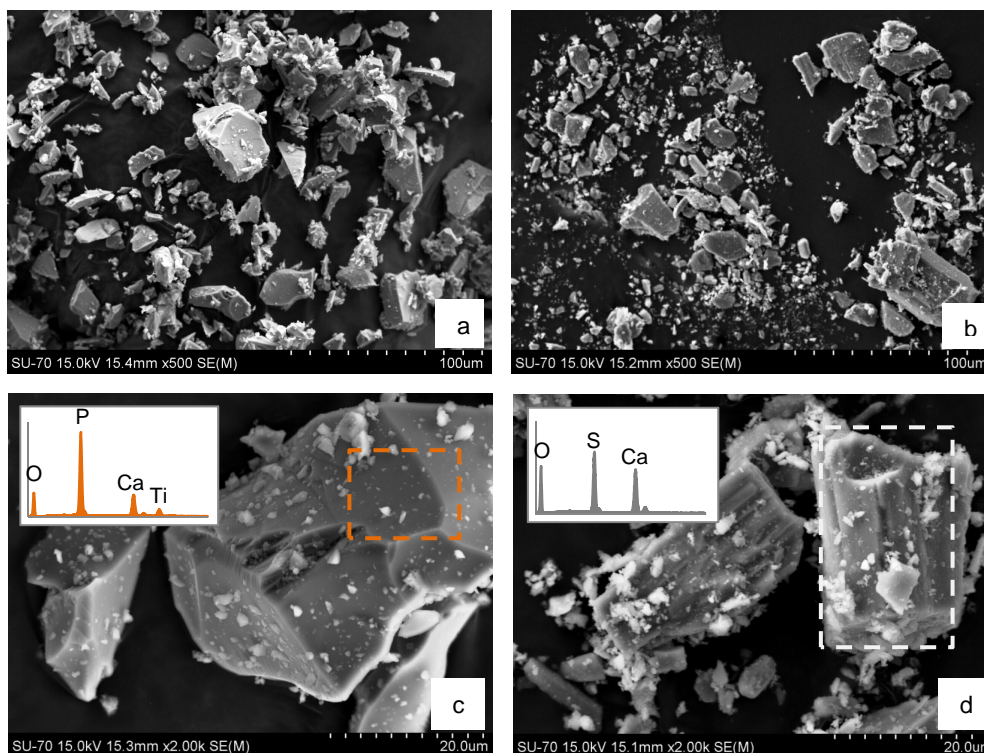


Figura 26. Micrografias obtidas por SEM e espectro EDS do pó de vidro (a e c) e do pó comercial (b e d).

As micrografias do pó de vidro T14P43 e do pó comercial evidenciam semelhanças morfológicas: partículas irregulares com superfícies planas (Figura 26). Por EDS confirmou-se a constituição química das partículas de vidro: P, Ca e Ti, enquanto que as partículas de pó comercial são compostas principalmente de S e Ca. Tal facto indica que o processo de preparação dos pós de vidro não provocou contaminações nos materiais.

3.1.2 Testes de ligação dos pós de vidro T14P43

Outro dos aspectos que influencia e determina o sucesso da impressão 3D é a combinação do pó com o ligante. Para determinar qual o ligante mais adequado foi necessário a realização de testes de ligação dos pós de vidro a diferentes ligantes. Têm sido testados em estudos de impressão 3D de biomateriais vários tipos de ligantes [2, 5, 88-90, 92].

Uma vez que o vidro tem P_2O_5 , o vidro apresenta características higroscópicas que ajudam à ligação das partículas em meios húmidos.

Sabendo que o amido de milho endurece em contacto com água e uma vez que não é um material tóxico, nos primeiros ensaios de ligação de pós, foram testadas formulações de pós de vidro com amido de milho, usando como ligante água (ver Tabela III). O compacto obtido apresenta uma elevada fragilidade pelo que se abandonou esta formulação.

Testes realizados com pó de vidro e água revelaram-se mais promissores.

No terceiro conjunto de testes (Tabela III), verificou-se que os ligantes etanol, bicarbonato de sódio e água destilada foram os que proporcionaram um menor tempo de secagem do T14P43, ao contrário do pó ligado com ácido cítrico (25%) e de ácido fosfórico (5%) que ao fim de 3 horas de secagem ainda se apresentava humedecido. Após 18 horas foi efectuada a remoção dos compactos de vidro. Os compactos produzidos com o ligante comercial não apresentavam resistência suficiente e desfizeram-se durante o processo de remoção. No caso dos pós ligados com etanol, a elevada velocidade de secagem não permitiu a ligação das partículas e por isso não se obtiveram compactos. Os pós de vidro ligado com bicarbonato de sódio e com Coca-cola, embora tenham originado compactos de vidro, durante a extração desfizeram-se quase na totalidade. Os ligantes que conferiram maior resistência aos compactos foram: água destilada, ácido fosfórico (5%), ácido cítrico (5%), ácido cítrico (15%) e de ácido cítrico (25%). Micrografias obtidas por SEM, dos compactos de vidro (Figura 27) mostram superfícies compactas que não apresentam diferenças significativas entre si.

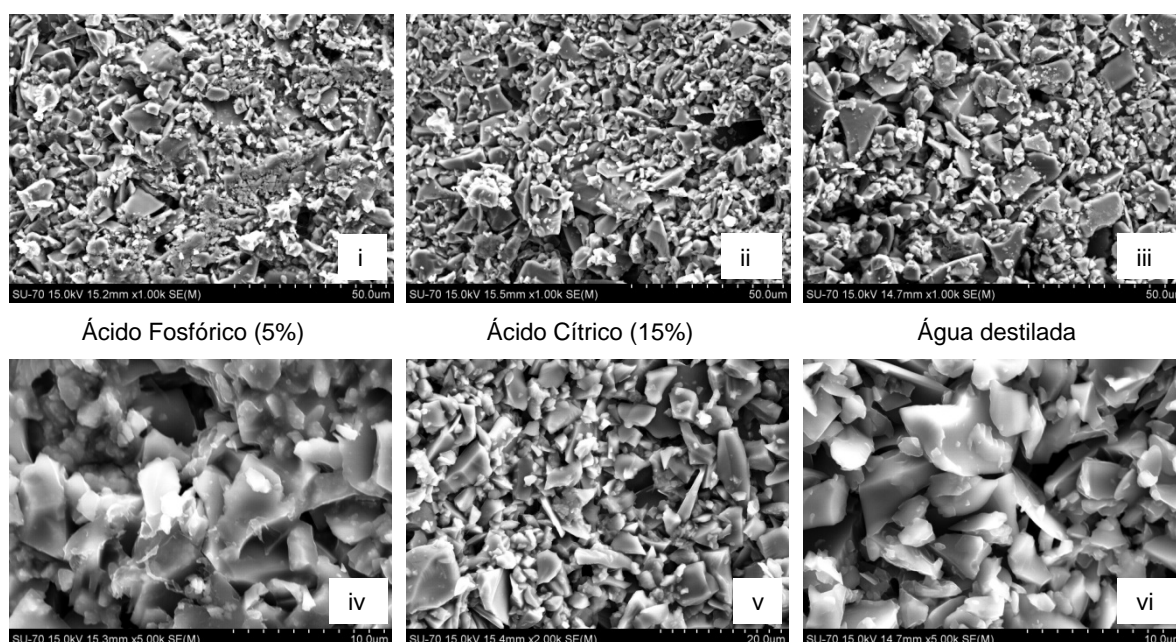


Figura 27. Micrografias obtidas por SEM dos compactos de vidro com ácido fosfórico (5%) (i e iv), ácido cítrico (15%) (ii e v) e água destilada (iii e vi).

No final deste processo concluiu-se que os compactos obtidos através de ácido fosfórico (5%), ácido cítrico (15%) e água destilada foram os que demonstraram melhores resultados ao nível de resistência em verde. Como a água destilada se demonstrou favorável, foram também realizadas deposições de água desionizada em pós de vidro e procedeu-se ao estudo da formulação de partículas G90F10. Dadas as características físico-químicas do ácido fosfórico optou-se pela sua não utilização.

Na Tabela XI são apresentados os resultados referentes ao 4º teste de ligação de pós. Os compactos que apresentaram um tempo de secagem e de endurecimento mais rápido foram

aqueles ligados com água desionizada. Ao final de 3 horas de secagem todos os compactos apresentam o mesmo aspecto.

Após 18 horas os compactos foram extraídos e verificou-se que os mais resistentes eram aqueles ligados com água desionizada e com ácido cítrico (5%). Por outro lado os compactos com água destilada e 15% ácido cítrico apresentaram maior fragilidade na sua extracção.

Tabela XI. Tempo de secagem dos compactos de vidro – 4º teste de adesão de pós

Tempo	Ligantes			
	Água desionizada	Água destilada	Ácido Cítrico (5%)	Ácido Cítrico (15%)
5min	X	X	X	X
10min	X	X	X	X
20min	X	X	X	X
30min	+	+	+	+
40min	+	+	+	+
50min	+	+	+	+
60min	+++	++	++	++
1h15min	+++	++	+++	++
1h45min	++++	+++	+++	+++
2h	+++++	++++	++++	++++
2h45min	+++++	++++	++++	+++++
3h	+++++	+++++	+++++	+++++

X – muito húmido

+ - Húmido

++ - Mais seco e a ganhar alguma consistência

+++ - Mais seco mas a oferecer pouca resistência ao toque da espátula (fica marcado)

++++ - Seco e quase endurecido (oferece mais resistência)

+++++ - Seco e endurecido

Ao analisar a superfície dos compactos de vidro (Figura 28) verifica-se que não existe uma homogeneização das partículas, uma vez que existem zonas de maior concentração de partículas finas e outras com partículas grossas. Contudo, não se verificam diferenças significativas entre os vários compactos.

Os compactos ligados com água desionizada e com ácido cítrico (5%) revelam maior resistência em verde. Seleccionou-se a água desionizada como ligante a usar nas impressões 3D de *scaffolds* de vidro T14P43 face às características químicas.

É importante desenvolver uma adequada combinação e interacção entre o pó e o ligante. Entre outros parâmetros, a viscosidade e tempo secagem do ligante são também importantes para a penetração nas camadas de pó e posterior ligação [84].

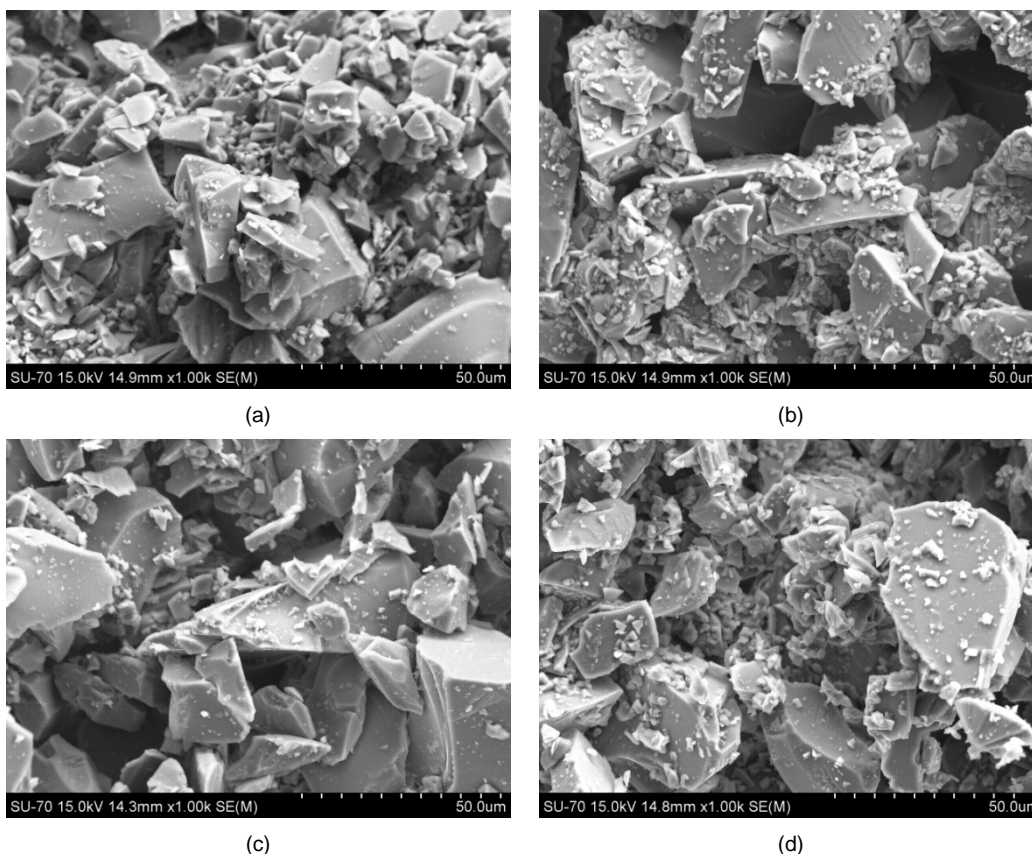


Figura 28. Micrografias obtidas por SEM de compactos de vidro ligados com água desionizada (a), 5% ácido cítrico (b), água destilada (c) e 15% ácido cítrico (d).

3.2 Produção de *scaffolds* de vidro T14P43 por impressão 3D

3.2.1 Parâmetros para impressão 3D

A calibração de vários parâmetros processuais foi uma das etapas essenciais para a impressão 3D de *scaffolds* de vidro T14P43. O controlo da saturação de ligante depositado, a espessura da camada de pó impressa, a activação do *bleed compensation* e o tipo de ligante foram os parâmetros analisados para a optimização do processo.

i) Primeira fase de testes de impressão:

Durante a primeira impressão de pó de vidro ($G < 106\mu\text{m}$) com ligante composto de água desionizada, verificou-se uma adequada fluidez do pó na formação das camadas. No entanto, na etapa de despoeiramento do modelo impresso verificou-se que não existia definição da geometria, o modelo era bastante frágil e à medida que era retirado o pó em excesso eram reduzidas as dimensões do modelo. Durante a impressão das várias secções do modelo projectado era notória uma dispersão significativa do ligante para a zona interna, entre os cilindros, do protótipo que

promovia a união dos mesmos. Esta dispersão não permitia a definição das aberturas do *scaffold* e por isso eram obtidos modelos maciços (Figura 29).



Figura 29. Impressão 3D de pó de vidro ($G < 106\mu m$) com água desionizada

Para impedir a dispersão de ligante para a zona interna da peça foram desenvolvidas formulações de pós com partículas finas, de forma promover uma melhor compactação com o preenchimento de espaços vazios entre as partículas grandes de pó. Desta forma, as partículas finas ajudaram a impedir a propagação do ligante para zonas não desejadas.

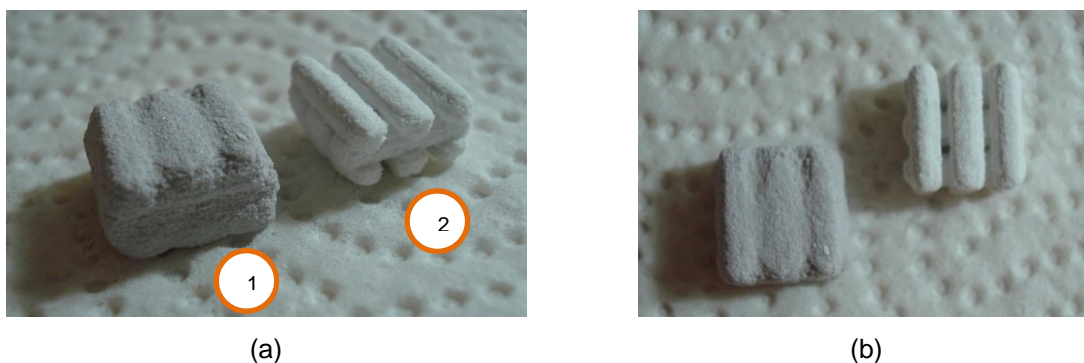


Figura 30. Impressão 3D de pó de vidro (G90F10) (1) e o modelo padrão (2). Vista lateral (a) e de topo (b).

Ao analisar os resultados desta impressão (Figura 30), verifica-se que melhorou ligeiramente a definição do modelo, no entanto mantêm-se a propagação do ligante para o seu interior. De forma a evitar esta propagação, e melhorar a definição geométrica dos modelos, foram realizadas impressões com saturações de ligante inferiores (saturação de *shell* e *core* do modelo 3,4 e 5 - Tabela V – pág. 37) e verificou-se que quanto menor a saturação de ligante, menor é a propagação da água e melhor é a definição da peça (Figura 31).

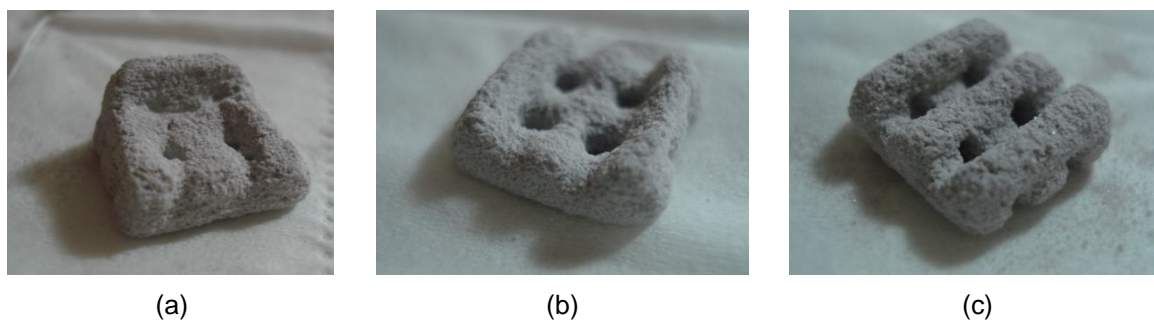


Figura 31. Impressão de modelos com menor saturação de ligante: modelo impresso 3 (a), 4(b) e 5(c).

O último modelo apresenta a melhor definição da geometria, sendo este o que incorpora menor quantidade de ligante (nível de saturação de *shell* e de *core* de 12% e 1%, respectivamente - Tabela V – pág. 37), no entanto é muito frágil.

ii) Segunda fase de testes de impressão:

Numa segunda fase do estudo, utilizou-se a formulação G80F20 e foi activada a função *bleed compensation* na impressão 3D para conferir uma maior precisão geométrica, uma vez que a deposição de ligante é mais controlada. Aumentou-se também a espessura da camada impressa para impedir o excesso de molhabilidade das camadas e foram definidos diferentes saturações de ligante para o *core* de cada cilindro e para o *shell*.

Nos primeiros 3 modelos impressos nesta fase verificou-se uma melhoria do processo de impressão, não era visível a propagação da água mas a quantidade de ligante era insuficiente para a união das sucessivas camadas levando à obtenção de peças frágeis. Perante estes resultados, aumentou-se a saturação de ligante e diminui-se a espessura da camada nos modelos 4 e 5, o que proporcionou uma melhoria significativa da geometria (Figura 32).

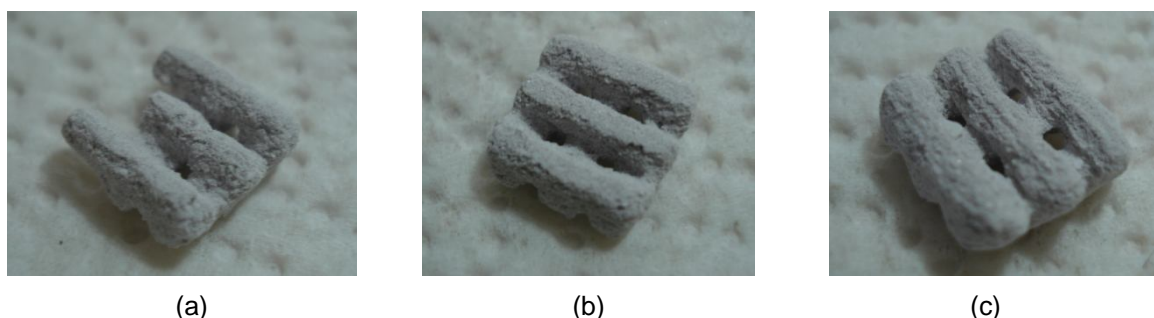


Figura 32. Impressão de modelos com menor saturação de ligante (nível de saturação no *core* de 0% e nível de saturação no *shell* de 51%, 69% e 83%): modelo impresso 3 (a), 4(b) e 5(c).






Para estes dois últimos modelos, foi utilizada o nível de saturação mínima de ligante no *core* (0%) e de saturação máxima no *shell* permitida pelo *software* para as espessuras de camada de 0,152mm e 0,181mm. Verificou-se que com a impressão de camadas mais espessas, não é

possível fazer a ligação eficiente entre as várias camadas impressas uma vez que a saturação de ligante não é suficiente para penetrar as diferentes camadas (modelo 3 da Figura 32). Com uma espessura mais fina, de 0,152mm, pode haver uma dispersão excessiva de ligante e prejudicar a precisão dimensional do modelo. Com estes testes fixaram-se, então, as condições limite de impressão: espessuras compreendidas entre 0,152mm e 0,181mm com um nível de saturação 0% no *core* do modelo e de saturação máxima disponibilizada no *shell* do modelo.

iii) Terceira fase de testes de impressão:

Uma vez otimizado o processo, numa terceira fase, foi acrescentado ao modelo virtual mais uma secção de cilindros e foram efectuados testes dentro das condições limite estabelecidas. Ao longo das impressões manteve-se a dificuldade no despoeiramento dos impressos. Foram testadas impressões com uma nova formulação de ligante constituído por água desionizada e álcool etílico (96%) de forma a possibilitar uma diminuição do tempo de secagem e garantir a não dispersão do ligante para zonas não desejadas.

Tabela XII. Impressão de modelos com adição de álcool na composição do ligante

		Parâmetros		
Ligante		Espessura da camada - 0,152mm; N° de camadas impressas – 42; Saturação Máxima para o <i>shell</i> (83%);	Espessura da camada - 0,165mm; N° de camadas impressas – 39; Saturação Máxima para o <i>shell</i> (77%);	Espessura da camada - 0,181mm; N° de camadas impressas – 35; Saturação Máxima para o <i>shell</i> (69%);
Água desionizada				
Obs:		Modelo 1 Despoeiramento incompleto	Modelo 2 Despoeiramento incompleto	Modelo 3 Despoeiramento incompleto
Água desionizada (97%) Álcool (3%)		-		
Obs:		-	Modelo 4 Menor tempo de secagem. Despoeiramento interno completo.	Modelo 5 Menor tempo de secagem. Despoeiramento interno completo.

Uma das dificuldades no processo de produção de *scaffolds* é o despoeiramento completo de todos os canais internos do *scaffold*. A adição de álcool à composição do ligante diminuiu o tempo de secagem e permitiu o despoeiramento completo de todos os canais internos do *scaffold*. Verificou-se também que o despoeiramento é mais facilitado com espessuras de camadas superiores (0,181mm), uma vez que promove uma menor propagação do ligante.

O *scaffold* que apresenta melhor definição geométrica resultados é o modelo 5, (Tabela XII) na qual o tempo de despoeiramento foi mais curto. A presença de álcool reduziu o tempo de secagem.

iii)Quarta fase de testes de impressão:

Uma vez que a adição de álcool melhorou significativamente o processo e a precisão geométrica da peça, numa quarta e última fase foram testadas impressões de *scaffolds* com ligantes à base de água desionizada e diferentes quantidades de álcool. Com estes testes, procedeu-se à avaliação dos desvios em altura e largura dos cilindros de cada *scaffold* comparativamente às dimensões CAD projectadas (Tabela XIII, Figura 33, Figura 34).

Tabela XIII. Resumo dos resultados obtidos dos desvios dimensionais dos impressos com diferentes ligantes.

Ligante	Média dos cilindros		Desvio		Desvio	
	largura (mm)	altura (mm)	largura (mm)	altura (mm)	largura (%)	altura (%)
(CAD)	2,5	12	-	-	-	-
zb56 (ligante e pó comercial zp140)	2,70	10,71	0,20	1,29	8,03	10,78
Água desionizada (100%)	3,08	12,09	0,58	0,10	23,33	0,80
Água desionizada (97%) + Álcool (3%)	3,41	12,78	0,91	0,78	36,54	6,48
Água desionizada (90%) + Álcool (10%)	3,20	12,64	0,70	0,64	27,81	5,30
Água desionizada (80%) + Álcool (20%)	2,96	12,23	0,46	0,23	18,29	1,89
Água desionizada (70%) + Álcool (30%)	2,92	12,32	0,42	0,32	16,60	2,68
Água desionizada (60%) + Álcool (40%)	2,78	11,74	0,28	0,26	11,11	2,15

Ligante	Média dos cilindros		Desvio		Desvio	
	largura (mm)	altura (mm)	largura (mm)	altura (mm)	largura (%)	altura (%)
Água desionizada (50%) + Álcool (50%)	2,78	12,00	0,28	0,07	11,03	0,55
Água desionizada (40%) + Álcool (60%)	2,36	11,62	0,14	0,38	5,64	3,14
Água desionizada (30%) + Álcool (70%)	2,40	11,57	0,10	0,43	4,15	3,57

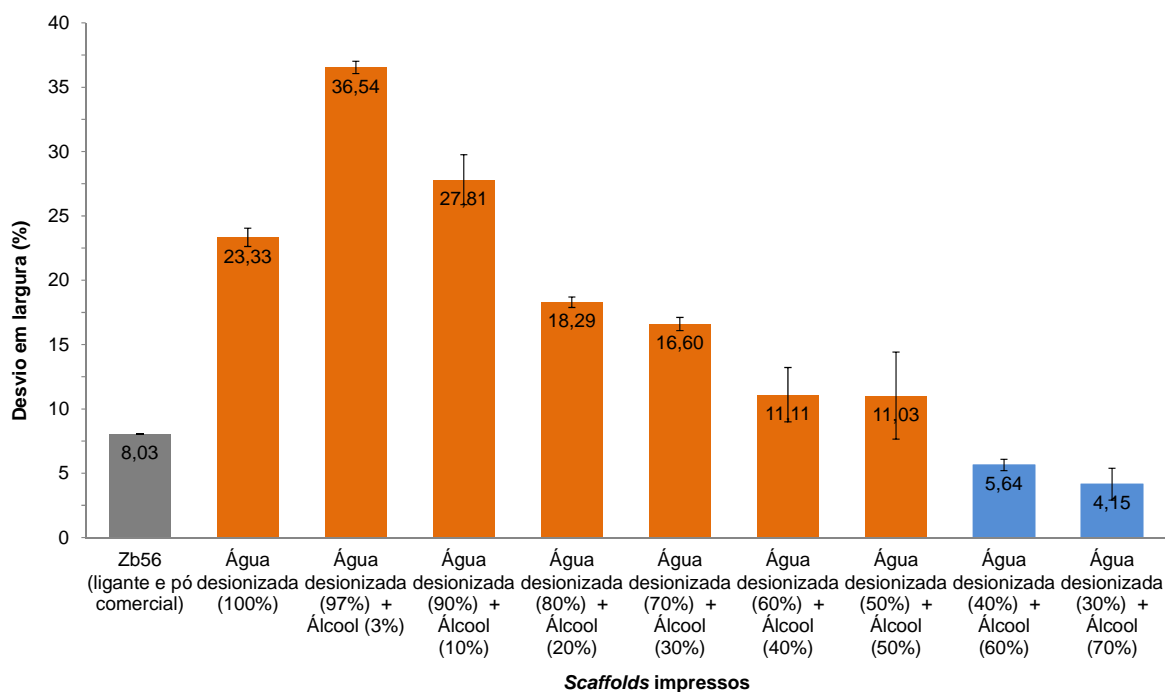


Figura 33. Desvios calculados correspondentes à largura dos cilindros.

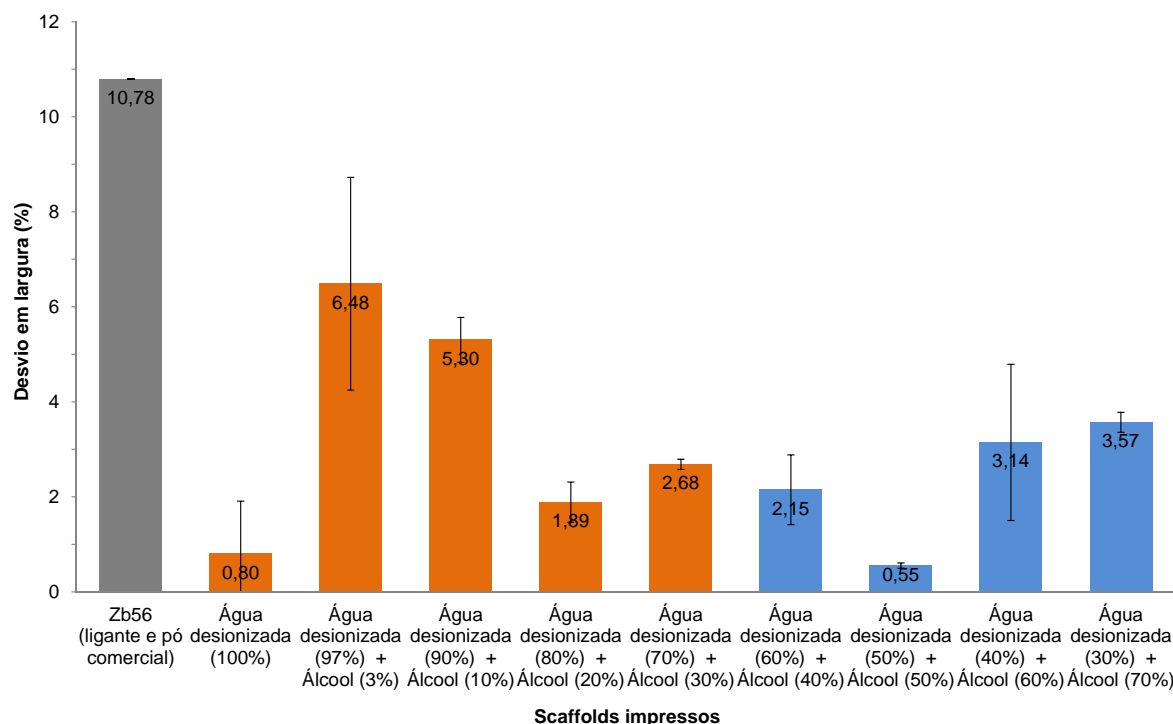


Figura 34. Desvios calculados correspondentes à altura dos cilindros.

Os gráficos da Figura 33 e da Figura 34 apresentam os resultados relativos aos desvios em largura e altura dos cilindros dos *scaffolds* impressos com diferentes ligantes. A cinzento está representada-se os desvios relativos ao *scaffold* impresso com pó e ligante comerciais. A laranja representa-se os desvios, positivos, dos impressos que apresentam um aumento das dimensões relativamente às dimensões projectadas e a azul representa-se os desvios, negativos, dos impressos que apresentam dimensões inferiores às dimensões projectadas.

À medida que se aumentou o teor de álcool diminui o tempo de secagem das camadas impressas, verifica-se uma melhor definição e precisão geométricas. A partir de um dado teor de álcool, a secagem é rápida e impede o desenvolvimento de ligações fortes entre as partículas, levando a uma maior fragilidade do modelo na etapa de despoeiramento.

Ao analisar os resultados relativos aos desvios, verifica-se que o *scaffold* impresso com ligante constituído por 70% de água desionizada e 30% de álcool apresenta melhores resultados, tendo em conta a definição da geometria e os desvios em largura e altura. Apesar de os *scaffolds* impressos com 40 e 50% de álcool apresentarem um menor desvio em largura, verifica-se uma menor qualidade em termos da definição da geometria, bem como um desvio negativo relativamente à altura dos cilindros.

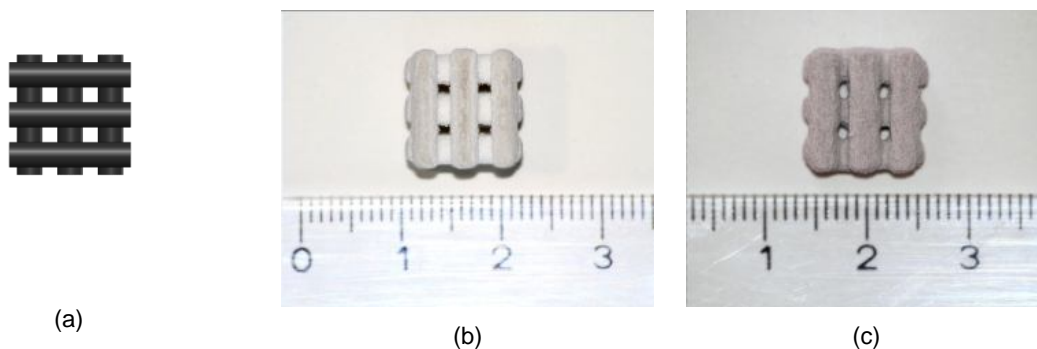


Figura 35. Comparação dimensional e geométrica do modelo CAD (a) com o *scaffold* impresso com pó e ligante comercial (b) e o *scaffold* impresso com pó de vidro T14P43 (G80F20) e ligante com 70% água desionizada e 30% de álcool (c).

Ao comparar o *scaffold* impresso com ligante constituído por 70% água desionizada e 30% de álcool com o *scaffold* impresso com ligante e pó comerciais (Figura 35), verifica-se que o modelo padrão apresenta um menor desvio relativo à largura dos cilindros que constituem o *scaffold* mas um maior desvio relativo à altura.

Através destes testes foi possível seleccionar as condições mais adequadas para a impressão de *scaffolds* por impressão 3D. Em resumo, as condições seleccionadas para a impressão de amostras, a caracterizar, foram:

- (i) Formulação de pós de vidro T14P43 com 80% de partículas grossas e 20% de partículas finas (G80F20);
- (ii) Formulação de ligante com 70% de água desionizada e 30% de álcool;
- (iii) Espessura da camada de pó impressa de 0,181mm;
- (iv) Nível de saturação no *shell* de 69%;
- (v) Nível de saturação no *core* de 0%;
- (vi) Activação da função *bleed compensation*.

3.2.2 Pós-processamento: sinterização

A resistência em verde dos impressos é condicionada pela força das ligações entre as partículas e as várias camadas impressas. Estas ligações não apresentam resistência mecânica suficiente que permita a sua utilização em aplicações biomédicas. O tratamento térmico é um dos métodos de pós-processamento que permite conferir maior resistência mecânica aos modelos impressos.

Foram realizados estudos com recurso a ATD/TG e análise dilatométrica do material em estudo (Figura 36 e Figura 37). Estas análises permitem prever o comportamento do térmico do material durante a etapa de sinterização. Com base nas transformações térmicas ocorridas e nas variações de massa e dimensionais foi estabelecido um tratamento térmico para sinterização.

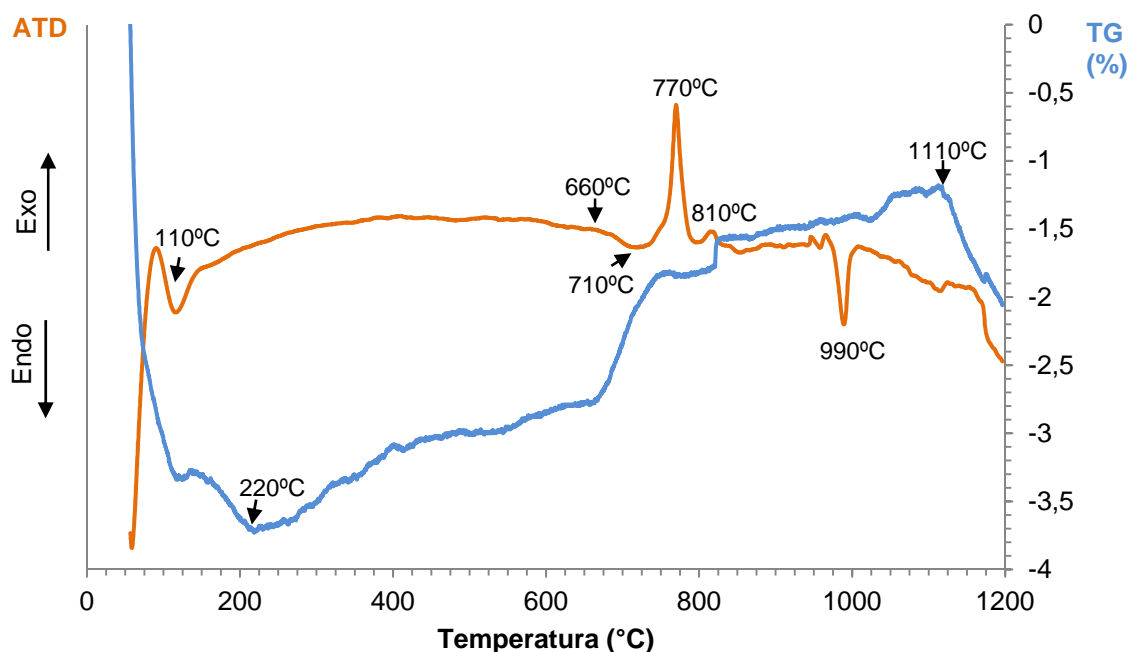


Figura 36. ATD/TG do pó de vidro T14P43.

Ao analisar as curvas da Figura 36, verifica-se que ocorre uma perda de massa de ~3,7% até ~220°C associado ao efeito endotérmico a ~110°C relacionado com a perda de água absorvida. A ATD apresenta uma deflexão endotérmica no intervalo de 660°C a 710°C, associada à transição vítrea e posteriormente ocorrem dois efeitos exotérmicos associados ao fenómeno de cristalização do vidro, a 770°C e 810°C, respectivamente. O efeito endotérmico a 990°C é associado à fusão das fases cristalinas.

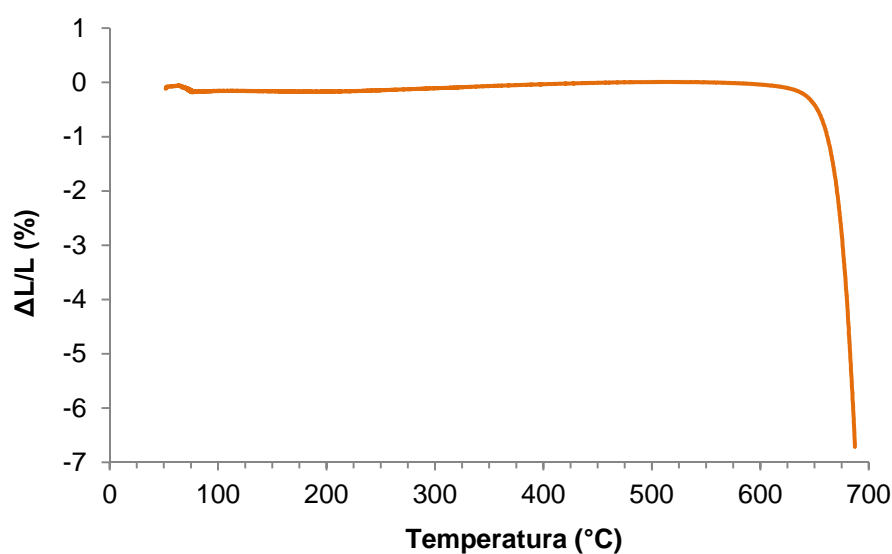


Figura 37. Análise dilatométrica de uma amostra impressa de vidro T14P43.

Como aspectos mais relevantes, a curva dilatométrica (Figura 37) apresenta uma expansão térmica devido ao aumento da temperatura até ~550°C. A partir desta temperatura há uma retracção correspondente ao amolecimento do vidro. Como se pretende obter *scaffolds* amorfos, evitaram-se temperaturas de sinterização superiores a 700°C, temperatura à qual se inicia a cristalização do vidro T14P43.

Tendo em conta as transformações e variações de massa e dimensionais apresentadas nas análises anteriores, foi definido uma estratégia de aquecimento até à temperatura de sinterização, com um patamar de uma hora, seguido de um arrefecimento a taxa constante até à temperatura ambiente (Figura 38) (ver Anexo-B).

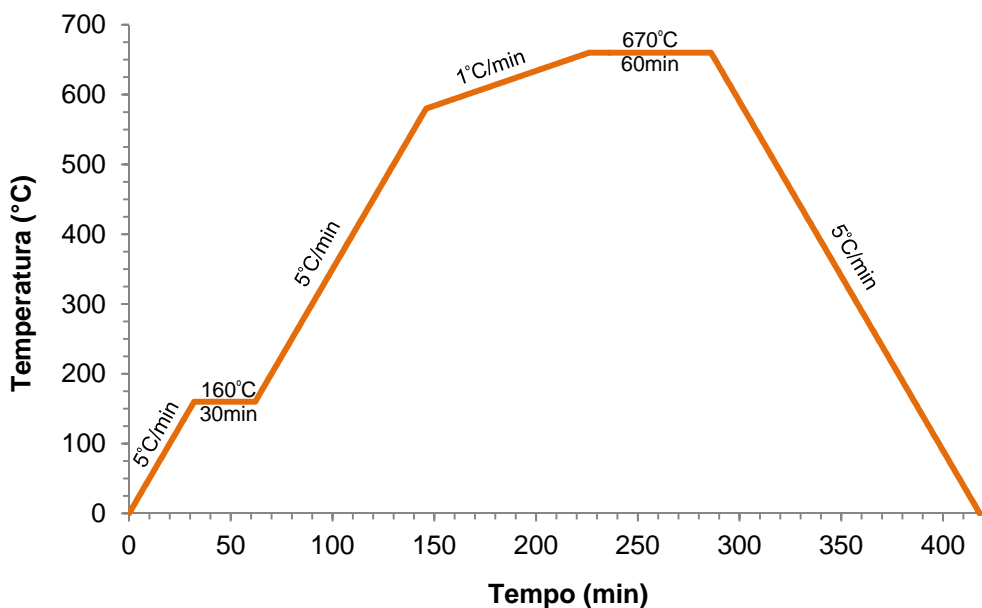


Figura 38. Programa de sinterização.

Posteriormente foram realizados estudos para detectar o início da cristalização do vidro, submetendo amostras impressas a tratamentos térmicos com diferentes temperaturas de sinterização (670°C, 680°C e 690°C). Estudos realizados relatam a utilização de vidros cristalizados do sistema $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$ com a presença de fases cristalinas como $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ e $\text{CaTiO}_4(\text{PO}_4)_6$ [97-99]. No presente trabalho, obteve-se os resultados de DRX apresentados na Figura 39, verificando-se que o vidro T14P43 começa a cristalizar a 690°C, temperatura à qual se formavam fases cristalinas. A esta temperatura observa-se o início do desenvolvimento de um vidro cerâmico constituído por metafosfato de cálcio $[\text{Ca}(\text{PO}_3)_2]$, fosfato de titânio $[\text{TiP}_2\text{O}_7]$ e pirofosfato de cálcio $[\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7]$. Relativamente às amostras sinterizadas a 670°C e 680°C, estas apresentam-se como amorfas.

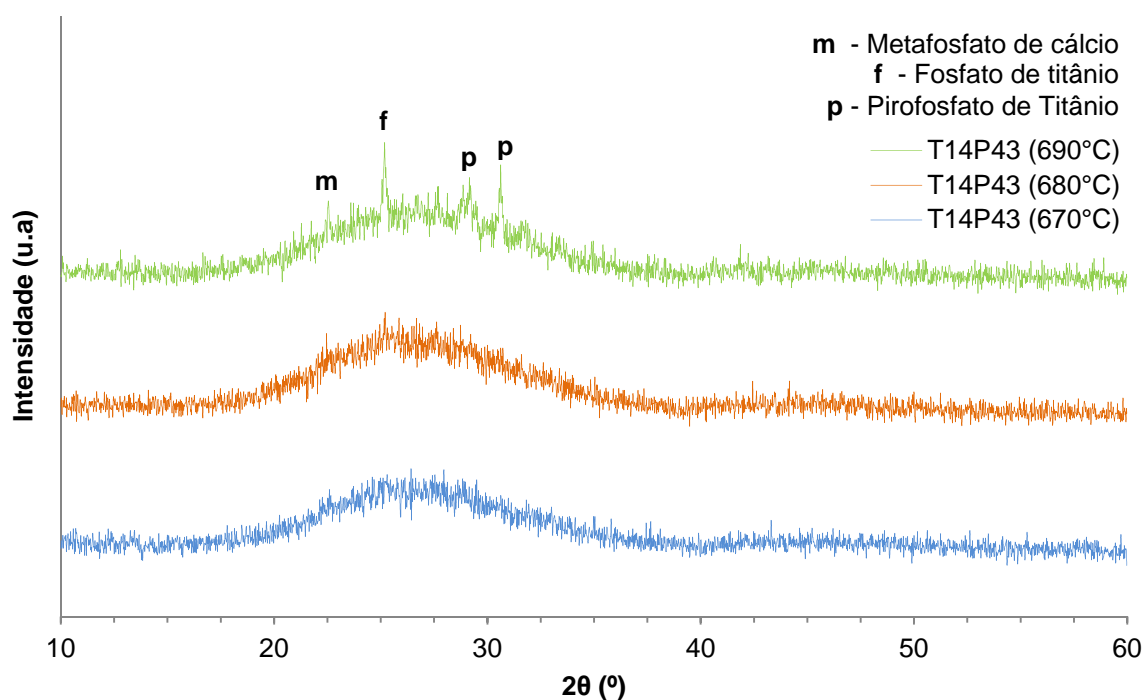


Figura 39. Estudo da cristalização do vidro T14P43 – DRX.

3.3 Caracterização das amostras de vidro T14P43

Foram impressas, sinterizadas e caracterizadas amostras obtidas a 670°C, 680°C e 690°C.

3.3.1 Caracterização física, superficial, morfológica e cristalográfica

As amostras de vidro T14P43 apresentam uma dependência da retracção linear média e densidade em função da temperatura de sinterização (Tabela XIV).

Tabela XIV. Caracterização dimensional das amostras de vidro T14P43 para uma densidade em verde de 0,831 g/cm³.

	ρ	Retracção linear
Amostras sinterizadas	(g/cm ³)	(%)
Vidro T14P43 (670°C)	1,40	16,47
Vidro T14P43 (680°C)	1,72	21,35
Vidro T14P43 (690°C)	1,80	23,07

Verifica-se um aumento progressivo da retracção nas amostras sinterizadas às temperaturas de 670°C, 680°C e 690°C.

Comparativamente com as amostras em verde, após a sinterização, verifica-se um aumento da densidade das amostras.

Quanto à rugosidade média superficial medida nas superfícies não polidas (Tabela XV e Figura 40), existe uma relação dependente não só da temperatura de sinterização (decréscimo da rugosidade com aumento da temperatura), como também da direcção das camadas impressas constituintes do modelo obtido. As faces laterais apresentam uma maior rugosidade uma vez que foram medidos os valores no sentido transversal às camadas impressas. A rugosidade no topo da amostra foi medida no sentido axial às camadas impressas. Nas amostras sinterizadas a 690°C observa-se um aumento da rugosidade, facto que se pode dever ao surgimento de fases cristalinas.

Tabela XV. Rugosidade média das amostras de vidro na face lateral e no topo.

Amostras	Ra (lateral) (μm)	Ra (topo) (μm)
Vidro T14P43 (670°C)	6,872 \pm 1,24	5,368 \pm 1,05
Vidro T14P43 (680°C)	5,669 \pm 1,13	4,660 \pm 1,11
Vidro T14P43 (690°C)	6,493 \pm 0,83	5,793 \pm 0,98

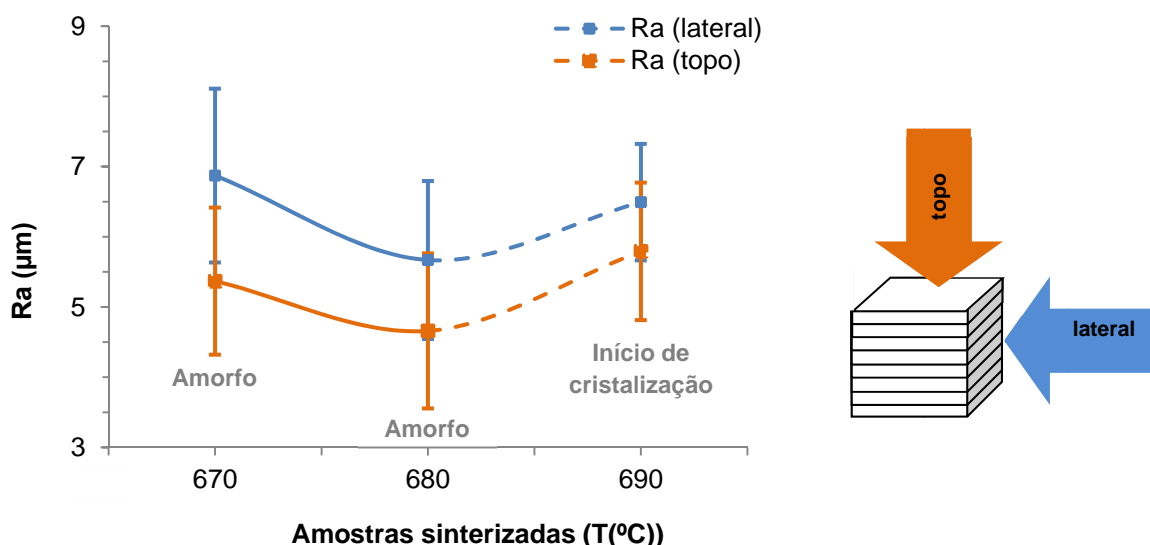


Figura 40. Rugosidade das amostras submetidas a diferentes tratamentos térmicos.

Ao nível morfológico, através de micrografias de superfícies de fractura das amostras de vidro, pode-se analisar as diferenças entre as superfícies da amostra de vidro em verde e as superfícies das amostras sinterizadas (Figura 41).

É possível observar micro e macro porosidades, bem como os contornos de partículas fracturadas nas amostras de vidro sinterizadas. Na micrografia da amostra de vidro sinterizada a 680°C é possível observar as superfícies lisas de fractura, que no caso da amostra de vidro sinterizado a 670°C não são tão evidentes.

Na Figura 41 c) é possível observar poros com tamanho superior a 100µm e microporos com tamanhos bastante inferiores (<10µm). A microporosidade contribui para uma maior área superficial do scaffold que favorece a sua aplicação *in vivo*, uma vez que possibilita a absorção de proteínas e a formação de camada HA por dissolução e precipitação de fases [2, 27, 28].

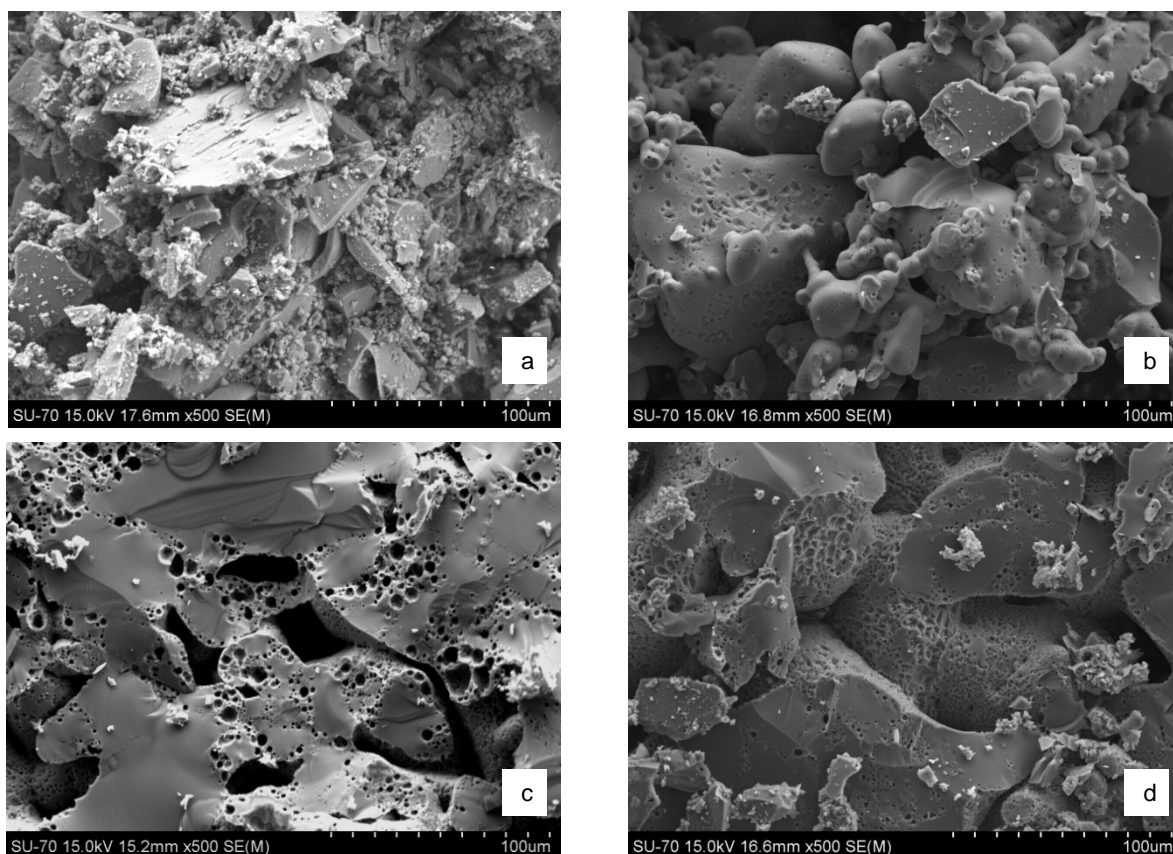


Figura 41. Micrografias à fractura da amostras de vidro em verde (a) e amostras de vidro sinterizadas a (670°C (b), 680°C (c) e 690°C (d).

Relativamente à percentagem de absorção de água e à percentagem de porosidade aparente, ambas diminuem com o aumento da temperatura de sinterização (Figura 42). A percentagem de absorção de água varia entre ~8 a 19% e a percentagem de porosidade aparente varia entre ~17 a 34% como se pode verificar na seguinte tabela.

Tabela XVI. % de absorção de água e a % porosidade aparente das amostras de vidro sinterizadas a diferentes temperaturas de sinterização

Amostras	%A.A.	%P.A.
Vidro T14P43 (670°C)	18,71±1,85	34,36±3,84
Vidro T14P43 (680°C)	10,32±0,68	20,90±1,44
Vidro T14P43 (690°C)	7,86±0,63	16,56±1,20

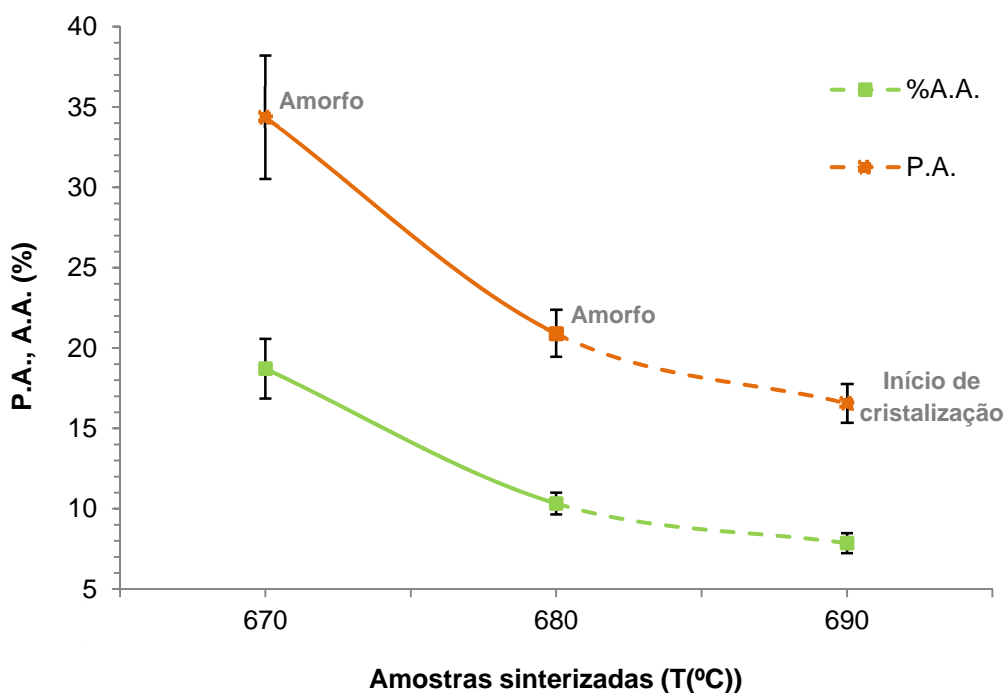


Figura 42. Variação da % de absorção de água e a % porosidade aparente das amostras de vidro com a temperatura de sinterização.

3.3.2 Propriedades mecânicas

Ao analisar os resultados obtidos dos ensaios de compressão, verifica-se que quanto maior é a temperatura de sinterização, maior é a resistência à compressão e maior é a deformação específica apresentada nas amostras de vidro T14P43 (Tabela XVII e Figura 43).

As amostras que apresentam maior resistência mecânica são as amostras sinterizadas a 690°C, as quais apresentam também uma menor porosidade, como seria de esperar.

Tabela XVII. Resistência à compressão e deformação específica percentual das amostras de vidro

Amostras	σ_c (MPa)	ε (%)
Vidro T14P43 (670°C)	$5,04 \times 10^{-3}$	1,24
Vidro T14P43 (680°C)	$1,23 \times 10^{-2}$	1,60
Vidro T14P43 (690°C)	$1,34 \times 10^{-2}$	1,74

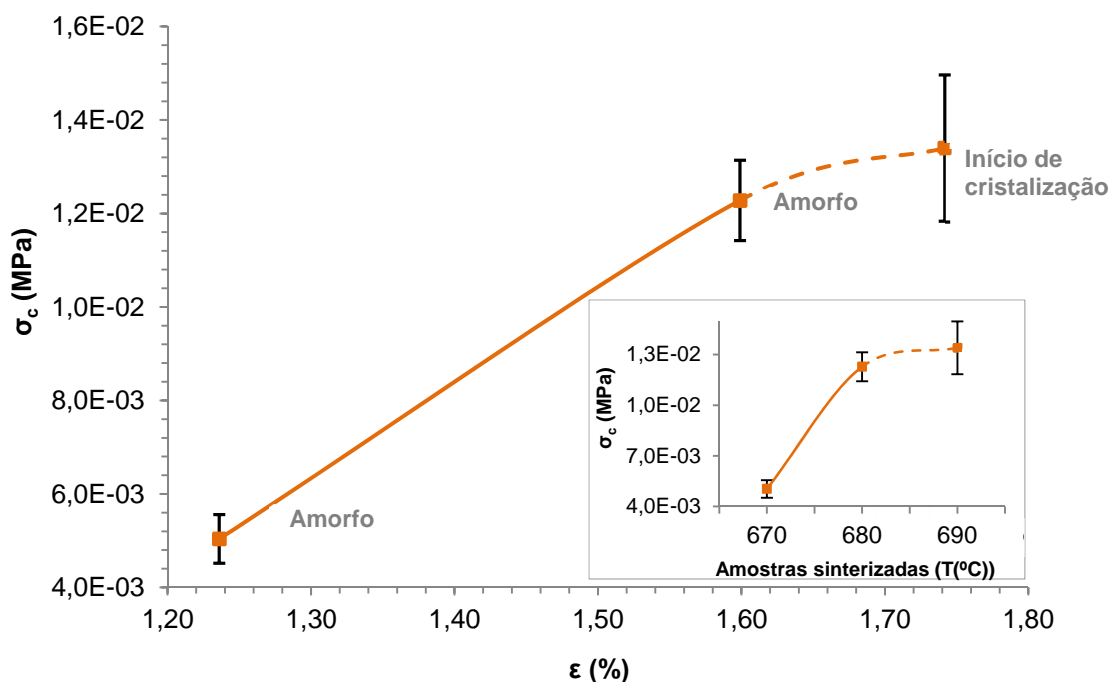


Figura 43. Resistência à compressão das amostras de vidro sinterizadas a diferentes temperaturas.

A amostra de vidro T14P43 (amorfa) que apresenta maior resistência mecânica é aquela sinterizada a 680°C. Estas amostras não apresentam valores de resistência à compressão que possibilitem a sua utilização em aplicações sujeitas a esforços mecânicos exigentes, uma vez que apresentam valores inferiores à do tecido ósseo (osso esponjoso - σ_c de 2-12MPa). No entanto, podem ser aplicadas em zonas de menor concentração de tensões [2, 12, 13].

Para os testes de mineralização foram seleccionadas as amostras sinterizadas a 680°C, dado tratar-se das amostras amorfas com melhor desempenho mecânico. Apesar das amostras sinterizadas a 690°C apresentarem um melhor comportamento mecânico, a presença de fases cristalinas nesta fase de desenvolvimento deste projecto não é desejável.

3.3.3 Testes de mineralização em SBF

Com base na selecção anteriormente referida, foram realizados testes de mineralização em SBF com amostras cilíndricas. O potencial bioactivo de amostras de vidro T14P43 foi testado em SBF. Analisaram-se as diferentes superfícies das amostras de vidro, polidas e não polidas.

Segundo os valores obtidos, através de testes de rugosimetria, os topos das amostras cilíndricas polidas apresentam uma rugosidade média de $4,9 \pm 0,29 \mu\text{m}$. Uma vez que as amostras são cilíndricas, não foi possível medir a rugosidade da superfície curva.

A existência de superfícies rugosas podem promover a migração de células à superfície do material conferindo melhores resultados *in vitro* [4, 25]. Testes de mineralização efectuados com a imersão de placas de vidro do sistema $\text{TiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$ em SBF mostraram maior facilidade

na formação de uma camada rica em Ca-P à superfície de placas de vidro com rugosidade mais elevada [9].

Ao analisar por SEM (Figura 44) as amostras que foram imersas em SBF, observam-se alterações superficiais significativas nas amostras ao fim de 14 dias comparativamente à amostra não imersa em SBF.

As amostras de 14 e 21 dias podem conter formações ricas em Ca-P, no entanto é difícil de comprovar por SEM. As partículas apresentam poros que estão “tapados”, porventura com formações ricas em Ca-P, o que não se verifica na amostra não imersa em SBF. A reduzida dimensão destas formações não permitem a sua determinação qualitativa por SEM/EDS.

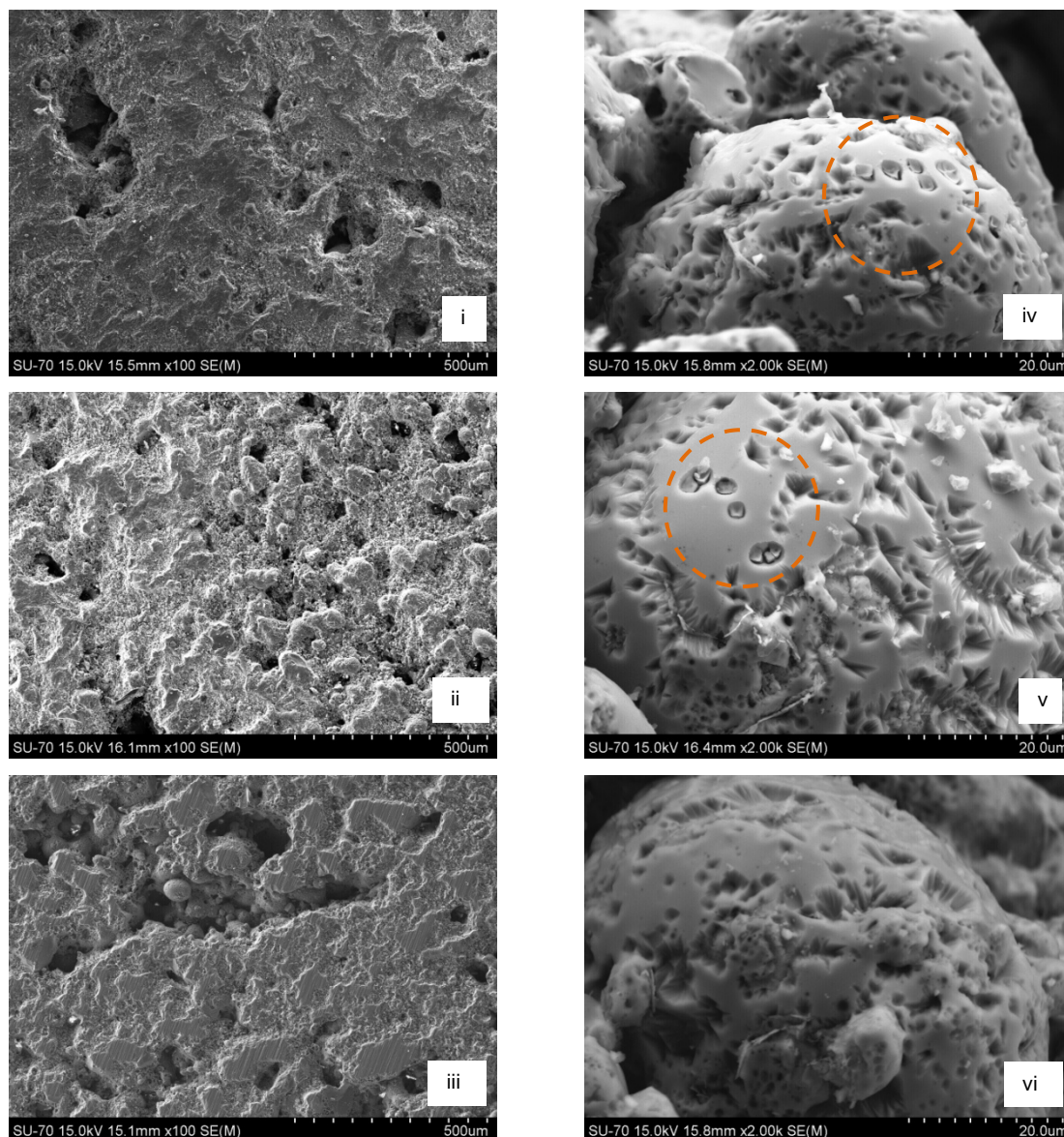


Figura 44. Micrografias da superfície polida da amostra não imersa em SBF (iii e vi) e amostras imersas em SBF durante 14 dias (i e iv), 21 dias (ii e v).

O mesmo sucede para as superfícies das amostras não polidas: a presença de poros "tapados" é novamente observada, admitindo-se uma vez mais a possibilidade de existir vestígios de formações ricas em Ca-P (Figura 45).

Ao comparar as micrografias da superfície polida e não polida não se verificam diferenças significativas que possam distinguir a superfície mais rugosa como sendo a mais adequada.

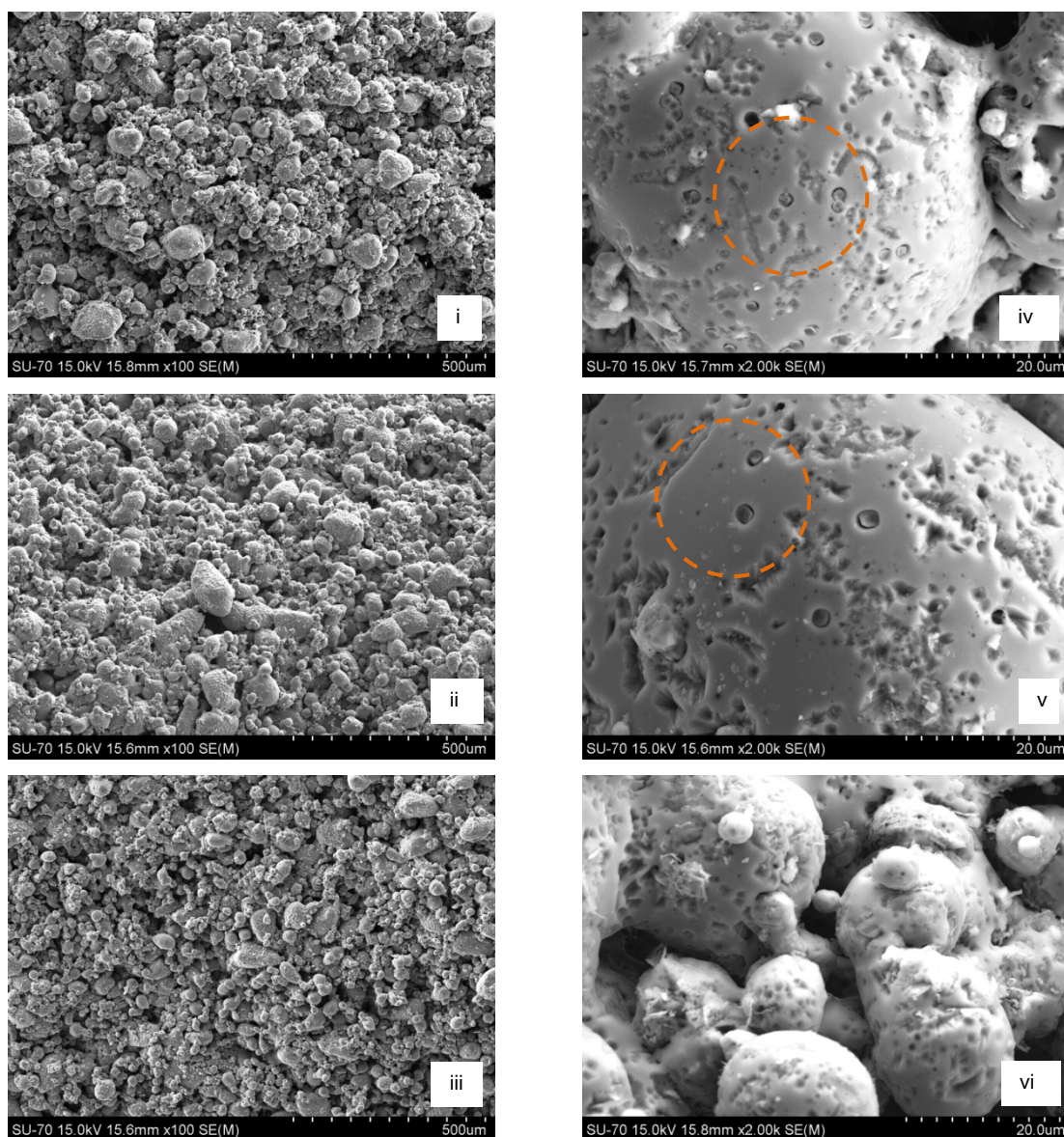


Figura 45. Micrografias da superfície não polida da amostra não imersa em SBF (iii e vi) e amostras imersas em SBF durante 14 dias (i e iv), 21 dias (ii e v).

Para além da observação no SEM, foram analisadas as amostras por DRX. No entanto não foi possível comprovar a presença de formações cristalinas ricas em Ca-P (Figura 46).

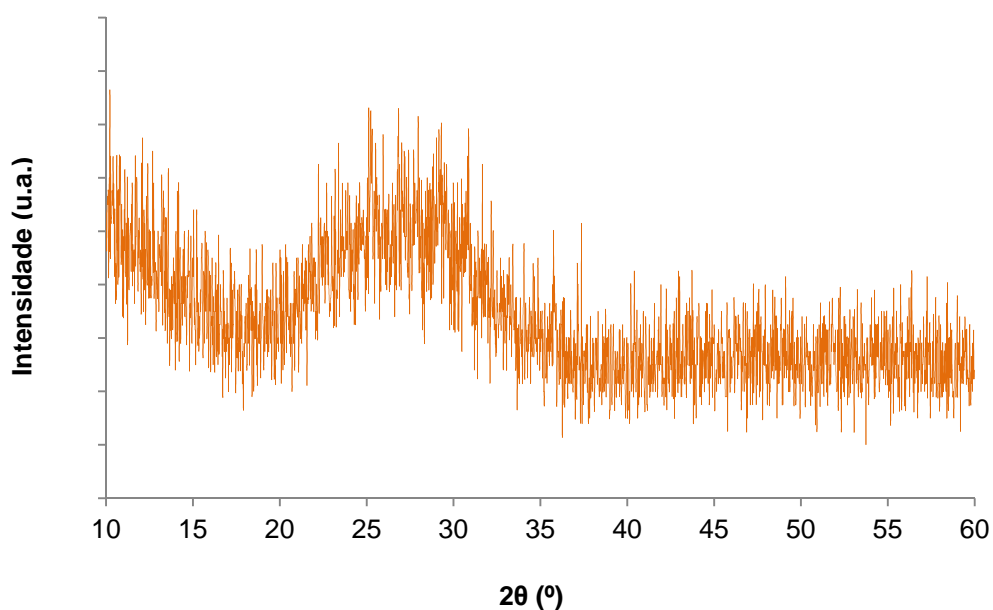


Figura 46. DRX da superfície polida da amostra imersa em SBF durante 21 dias.

Quanto ao pH da solução, após o tempo de imersão este valor manteve-se estável e praticamente constante ($\sim 7,3$).

Relativamente aos resultados da análise à solução SBF por ICP, foram analisadas as concentrações de Ca, P e Ti.

Ao analisar os resultados obtidos ao fim de 21 dias (Figura 47 e Figura 48) verifica-se que existe consumo de Ca e P da solução. Os resultados também demonstram que não houve dissolução mensurável de Ti, uma vez que a sua presença na solução não foi identificada, razão pela qual não se apresenta o gráfico.

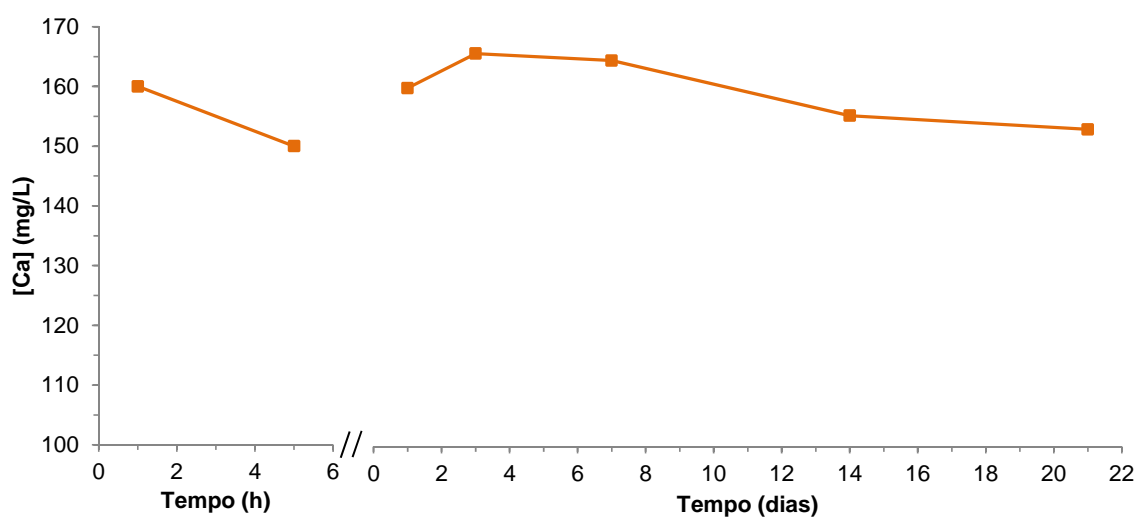


Figura 47. Concentração iónica de Ca na solução de SBF durante vários tempos de imersão das amostras sinterizadas (680°C) de vidro T14P43.

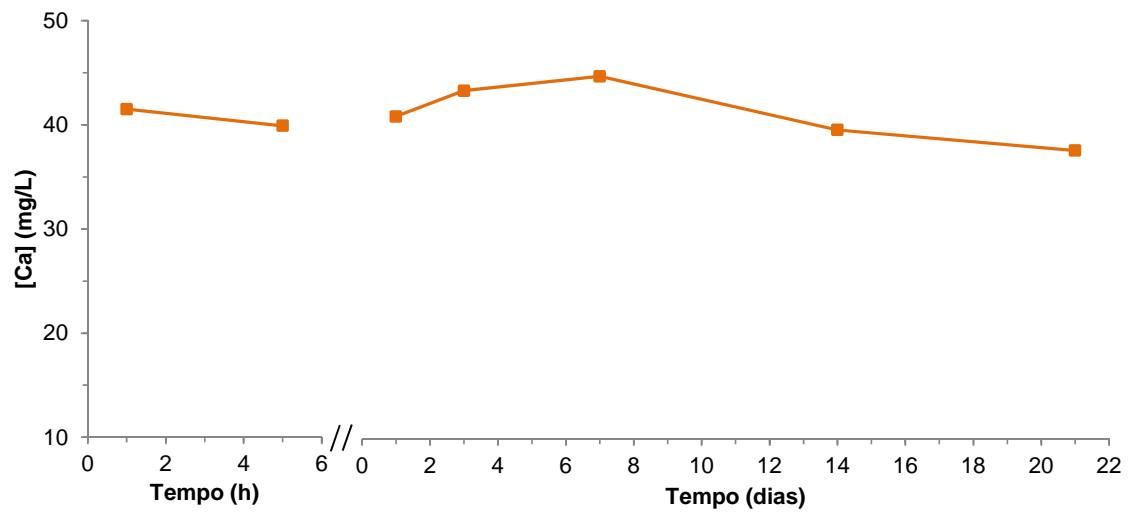


Figura 48. Concentração iônica de P na solução de SBF durante vários tempos de imersão das amostras sinterizadas (680°C) de vidro T14P43.

Para os tempos de 14 e 21 dias observa-se um decréscimo dos valores o que indica que houve um consumo de Ca-P do SBF que se atribui à deposição de Ca-P nas amostras de vidro.

4. Conclusão

Através do presente estudo foi possível demonstrar a capacidade da técnica de impressão 3D para a produção de *scaffolds*, a partir de pós de vidro T14P43.

A formulação do pó, a selecção do ligante, a interacção entre o pó e o ligante, bem como controlo de parâmetros do processo e pós-processamento revelaram-se indispensáveis ao sucesso deste processo.

Foi possível obter, por impressão, *scaffolds* com um desvio em largura e altura, dos cilindros que constituem o modelo, de 0,42 e 0,32mm, respectivamente.

Tendo em conta os vários testes realizados foram seleccionadas as condições de processamento mais adequadas à impressão 3D de *scaffolds* de vidro T14P43. Assim, foram utilizadas as seguintes condições de processamento: (i) formulação de pós (G80F20) constituída por 80% de partículas grossas ($> 20\mu\text{m}$ e $<106\mu\text{m}$) e 20% de partículas finas ($<20\mu\text{m}$), (ii) formulação de ligante constituído por 70% de água desionizada e 30% de álcool etílico (96%), (iii) espessura da camada de pó impressa de 0,181mm, (iv) nível de saturação na *shell* de 69%, (v) nível de saturação no *core* de 0% e (vi) activação da função *bleed compensation*.

Após a impressão das amostras de vidro, estas foram submetidas a diferentes tratamentos térmicos. As amostras amorfas, que apresentam as melhores características mecânicas, para utilização em *scaffolds* foram aquelas sinterizadas a 680°C. Estas amostras apresentam uma σ_c de $1,23 \times 10^{-2} \text{MPa}$ e uma retracção isotrópica linear de 21,3%. A sua rugosidade média lateral ($5,669 \pm 1,13\mu\text{m}$) é superior à sua rugosidade de topo ($4,660 \pm 1,11\mu\text{m}$). Apresentam uma percentagem de absorção de água de $10,32 \pm 0,68\%$, uma percentagem de porosidade aparente de $20,90 \pm 1,44\%$, uma macroporosidade superior a $100\mu\text{m}$ e microporosidade inferior a $10\mu\text{m}$.

Os *scaffolds* de vidro T14P43 obtidos por impressão 3D apresentam características físicas, morfológicas, superficiais e cristalinas adequadas à sua utilização como suporte temporário. Ao nível do desempenho mecânico, estes artefactos não são apropriados para as aplicações sujeitas a elevados esforços mecânicos, no entanto podem ser aplicados como estruturas de apoio à regeneração óssea em zonas do esqueleto onde o esforço mecânico é menor.

Relativamente ao potencial bioactivo destes artefactos, ao fim de 14 e 21 dias admite-se a existência de formações de Ca-P, localizadas em regiões específicas das amostras no entanto é difícil de comprovar, por SEM/EDS, esta deposição uma vez que a composição do vidro apresenta os elementos fósforo e cálcio.

Relativamente aos trabalhos futuros, o estudo de novas formulações de biocerâmicos e biovidros, poderá permitir o desenvolvimento de biomateriais com melhor resistência mecânica e precisão dimensional.

A resistência mecânica das amostras sinterizadas pode ser melhorada nomeadamente através do desenvolvimento de fases cristalinas.

O estudo de estratégias para o aumento da resistência em verde poderá dispensar a etapa de sinterização, permitindo a possibilidade de incorporação de células no processo de construção do *scaffold*, fornecendo a este factores de crescimento e indução de regeneração óssea.

Para uma potencial aplicação *in vivo*, será também necessário a realização de ensaios em meio celular (*in vitro*) e caso se obtenham resultados promissores, posteriormente preparar uma possível aplicação experimental num animal.

Outros tipos de aplicações na área da medicina regenerativa a considerar poderá passar pela aplicação desta técnica para incorporação de sistemas de libertação de fármacos, com dosagens e tempo de transferência adequados.

5. Bibliografia

- [1] Best, S. M.; Porter, A. E.; Thian, E. S. et al. - Bioceramics: Past, present and for the future, *Journal of the European Ceramic Society*, (2008), **28**, 1319-27.
- [2] Butscher, A.; Böhner, M.; Hofmann, S. et al. - Structural and material approaches to bone tissue engineering in powder-based three-dimensional printing, *Acta Biomaterialia*, (2011), **7**, 907-20.
- [3] Schlickewei, W.; Schlickewei, C. - The Use of Bone Substitutes in the Treatment of Bone Defects – the Clinical View and History, *Macromolecular Symposia*, (2007), **253**, 10-23.
- [4] Salgado, A. J.; Coutinho, O. P.; Reis, R. L. - Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends, *Macromolecular Bioscience*, (2004), **4**, 743-65.
- [5] Bergmann, C.; Lindner, M.; Zhang, W. et al. - 3D printing of bone substitute implants using calcium phosphate and bioactive glasses, *Journal of the European Ceramic Society*, (2010), **30**, 2563-67.
- [6] McAuliffe, J. A. - Bone Graft Substitutes, *Journal of Hand Therapy*, (2003), **16**, 180-87.
- [7] Hench, L. - The story of Bioglass®, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2006), **17**, 967-78.
- [8] Hench, L. - Bioceramics: from concept to clinic, *Journal of the American Ceramic Society*, (1991), **74 (7)**, 1487-510.
- [9] Silva, A. M. B. - Reactividade superficial de vidros com TiO₂ em soluções fisiológicas, Aveiro, Universidade de Aveiro, (2008).
- [10] Jones, J. R.; Ehrenfried, L. M.; Hench, L. L. - Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, (2006), **27**, 964-73.
- [11] Chen, Q.; Roether, J. A.; Boccaccini, A. R. - Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials, *Topics in Tissue Engineering* Eds. N. Ashammakhi, R. Reis, & F. Chiellini, (2008), 1-27.
- [12] Fu, Q.; Saiz, E.; Rahaman, M. N. et al. - Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives, *Materials Science and Engineering: C*, (2011), **31**, 1245-56.
- [13] Szűcs, T. D. - Production of Hard Tissue Scaffolds Using Three-Dimensional Printing Method, Dublin, Dublin city University, (2008).
- [14] Tortora, G. J. - Corpo humano : fundamentos de anatomia e fisiologia 4ª ed, Porto Alegre, Artes Médicas, (2000).

- [15] Seeley, R. R.; Stephens, T. D.; Tate, P. - Anatomia e fisiologia Loures, Lusociência - Edições Técnicas e Científicas (1998).
- [16] Colbert, B.; Ankney, J.; Lee, K. et al. - Anatomy and Physiology for Nursing and Health Professionals (2010).
- [17] Liu, H.; Webster, T. J. - Enhanced biological and mechanical properties of well-dispersed nanophase ceramics in polymer composites: From 2D to 3D printed structures, *Materials Science and Engineering: C*, (2011), **31**, 77-89.
- [18] Apelt, D.; Theiss, F.; El-Warrak, A. O. et al. - In vivo behavior of three different injectable hydraulic calcium phosphate cements, *Biomaterials*, (2004), **25**, 1439-51.
- [19] Torroni, A. - Engineered Bone Grafts and Bone Flaps for Maxillofacial Defects: State of the Art, *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, (2009), **67**, 1121-27.
- [20] Bone grafts and bone substitutes, Orthopedic Network News Mendenhall Associates, Inc., (1999), 10-17.
- [21] Theiss, F.; Apelt, D.; Brand, B. et al. - Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement, *Biomaterials*, (2005), **26**, 4383-94.
- [22] Gbureck, U.; Hölzel, T.; Klammert, U. et al. - Resorbable Dicalcium Phosphate Bone Substitutes Prepared by 3D Powder Printing, *Advanced Functional Materials*, (2007), **17**, 3940-45.
- [23] Jones, J. R.; Lin, S.; Yue, S. et al. - Bioactive glass scaffolds for bone regeneration and their hierarchical characterisation, *Journal of Engineering in Medicine*, (2010), **224 Part H**, 1373-87.
- [24] Saxena, A. K. - Tissue engineering: Present concepts and strategies, *Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons*, (2005), **10**, 14-19.
- [25] Yeong, W.-Y.; Chua, C.-K.; Leong, K.-F. et al. - Rapid prototyping in tissue engineering: challenges and potential, *Trends in Biotechnology*, (2004), **22**, 643-52.
- [26] Ginebra, M. P.; Espanol, M.; Montufar, E. B. et al. - New processing approaches in calcium phosphate cements and their applications in regenerative medicine, *Acta Biomaterialia*, (2010), **6**, 2863-73.
- [27] Leong, K. F.; Cheah, C. M.; Chua, C. K. - Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs, *Biomaterials*, (2003), **24**, 2363-78.

- [28] Marshall, J. - Personal Prototyping: Ceramics-based 3D inkjet and laser printing technology offers customized tissue engineering, body parts and more, *American Ceramic Society Bulletin*, (2009), **88**, 19-25.
- [29] Martin, J. W. - Concise Encyclopedia of the Structure of Materials, 1st ed, The Netherlands Elsevier, (2007).
- [30] Hollister, S. J. - Porous scaffold design for tissue engineering, *Nat Mater*, (2005), **4**, 518-24.
- [31] Sobral, J. M.; Caridade, S. G.; Sousa, R. A. et al. - Three-dimensional plotted scaffolds with controlled pore size gradients: Effect of scaffold geometry on mechanical performance and cell seeding efficiency, *Acta Biomaterialia*, (2011), **7**, 1009-18.
- [32] Leukers, B.; Gulkan, H.; Irsen, S. H. et al. - Hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering made by 3D printing, *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, (2005), **16**, 1121-24.
- [33] Sachlos, E.; Czernuszka, J. T. - Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds, *European Cells & Materials Journal*, (2003), **5**, 29-39.
- [34] Hutmacher, D. W.; Sittering, M.; Risbud, M. V. - Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems, *Trends in Biotechnology*, (2004), **22**, 354-62.
- [35] Meurer MI; Meurer E; Silva JVL et al. - Aquisição e manipulação de imagens por tomografia computadorizada da região maxilofacial visando à obtenção de protótipos biomédicos, *Radiol Bras*, (2008), **41(1)**, 49-54.
- [36] Alves, N.; Bartolo, P. - Integrated computational tools for virtual and physical automatic construction, *Automation in Construction*, (2006), **15**, 257-71.
- [37] Alves, F. J. L. - Protoclick : prototipagem rápida., Leça do Balio, Protoclick, (2001).
- [38] Fukuda, A.; Takemoto, M.; Saito, T. et al. - Osteoinduction of porous Ti implants with a channel structure fabricated by selective laser melting, *Acta Biomaterialia*, (2011), **7**, 2327-36.
- [39] Marcelo F. Oliveira; Izaque A. Maia; Pedro Y. Noritomi et al. - Construção de Scaffolds para engenharia tecidual utilizando prototipagem rápida, *Revista Matéria*, (2007), **12**, 373-82.
- [40] Hieu, L. C.; Bohez, E.; Vander Sloten, J. et al. - Design for medical rapid prototyping of cranioplasty implants, *Rapid Prototyping Journal*, (2003), **9**, 175-86.

- [41] Relvas, C. A. M. - Processos de prototipagem rápida no fabrico de modelos de geometria complexa: estudo realizado sobre o modelo anatómico da mão, Porto, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, (2002).
- [42] Ulbrich, C. B. L.; Oliveira, M. F. d.; Munhoz, A. L. J. et al. - Comparação entre três técnicas de prototipagem rápida para confecção de moldes para implantes personalizados, VI Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, Rio de Janeiro, (2010).
- [43] Pinheiro, F. L. - Proposta metodológica para determinação da técnica a ser utilizada na fabricação de ferramental rápido: um estudo de caso da concepção do molde protótipo para injeção plástica, Curitiba, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, (2008).
- [44] Petrzalka, J. E.; Frank, M. C. - Advanced process planning for subtractive rapid prototyping, *Rapid Prototyping Journal*, (2010), **16**, 216-24.
- [45] Almeida, H.; Bártolo, P. - Virtual topological optimisation of scaffolds for rapid prototyping, *Medical Engineering & Physics*, (2010), **32**, 775-82.
- [46] Kai, C. C.; Fai, L. K.; Sing, L. C. - Rapid prototyping : principles and applications 2nd ed, River Edge World Scientific (2003).
- [47] Klammert, U.; Gbureck, U.; Vorndran, E. et al. - 3D powder printed calcium phosphate implants for reconstruction of cranial and maxillofacial defects, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, (2010), **38**, 565-70.
- [48] Gbureck, U.; Hölzel, T.; Biermann, I. et al. - Preparation of tricalcium phosphate/calcium pyrophosphate structures via rapid prototyping, (2008).
- [49] Levy, R. A.; Chu, T. M.; Halloran, J. W. et al. - CT-generated porous hydroxyapatite orbital floor prosthesis as a prototype bioimplant, *American Journal of Neuroradiology*, (1997), **18**, 1522-5.
- [50] Stereolithography.com - Solid Ground Curing (acedido em 27 Out. 2011).
- [51] Comesaña, R.; Lusquiños, F.; del Val, J. et al. - Calcium phosphate grafts produced by rapid prototyping based on laser cladding, *Journal of the European Ceramic Society*, **31**, 29-41.
- [52] Tan, K. H.; Chua, C. K.; Leong, K. F. et al. - Scaffold development using selective laser sintering of polyetheretherketone–hydroxyapatite biocomposite blends, *Biomaterials*, (2003), **24**, 3115-23.

- [53] Drstvensek, I.; Hren, N. I.; Strojnik, T. et al. - Applications of Rapid Prototyping in Cranio-Maxillofacial Surgery Procedures, *Internacional Journal of Biology and Biomedical Engineering*, (2008), **2**, 29-38.
- [54] Kalita, S. J.; Susmita, B.; L., H. H. et al. - Development of controlled porosity polymer-ceramic composite scaffolds via fused deposition modeling, Amsterdam, Pays-Bas, Elsevier, (2003).
- [55] Zein, I.; Hutmacher, D. W.; Tan, K. C. et al. - Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications, *Biomaterials*, (2002), **23**, 1169-85.
- [56] Lee, M.; Dunn, J. C. Y.; Wu, B. M. - Scaffold fabrication by indirect three-dimensional printing, *Biomaterials*, (2005), **26**, 4281-89.
- [57] Dimitrov, D.; Schreve, K.; Beer, N. d. - Advances in three dimensional printing - state of the art and future perspectives, *Rapid Prototyping Journal*, (2006), **12**, 136-47.
- [58] Lam, C. X. F.; Mo, X. M.; Teoh, S. H. et al. - Scaffold development using 3D printing with a starch-based polymer, *Materials Science and Engineering: C*, (2002), **20**, 49-56.
- [59] Gbureck, U.; Hölzel, T.; Doillon, C. J. et al. - Direct Printing of Bioceramic Implants with Spatially Localized Angiogenic Factors, *Advanced Materials*, (2007), **19**, 795-800.
- [60] Rahaman, M. N.; Day, D. E.; Sonny Bal, B. et al. - Bioactive glass in tissue engineering, *Acta Biomaterialia*, (2011), **7**, 2355-73.
- [61] Wagoner Johnson, A. J.; Herschler, B. A. - A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair, *Acta Biomaterialia*, (2011), **7**, 16-30.
- [62] Hutmacher, D. W.; Schantz, J. T.; Lam, C. X. F. et al. - State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective, *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, (2007), **1**, 245-60.
- [63] Fierz, F. C.; Beckmann, F.; Huser, M. et al. - The morphology of anisotropic 3D-printed hydroxyapatite scaffolds, *Biomaterials*, (2008), **29**, 3799-806.
- [64] Will, J.; Melcher, R.; Treul, C. et al. - Porous ceramic bone scaffolds for vascularized bone tissue regeneration, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2008), **19**, 2781-90.
- [65] Irsen, S. H.; Leukers, B.; Höckling, C. et al. - Bioceramic Granulates for use in 3D Printing: Process Engineering Aspects, *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, (2006), **37**, 533-37.

- [66] Simon, J. L.; Rekow, E. D.; Thompson, V. P. et al. - MicroCT analysis of hydroxyapatite bone repair scaffolds created via three-dimensional printing for evaluating the effects of scaffold architecture on bone ingrowth, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, (2008), **85A**, 371-77.
- [67] Seitz, H.; Rieder, W.; Irsen, S. et al. - Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, (2005), **74B**, 782-88.
- [68] Becker, S. T.; Bolte, H.; Krapf, O. et al. - Endocultivation: 3D printed customized porous scaffolds for heterotopic bone induction, *Oral Oncology*, (2009), **45**, e181-e88.
- [69] Leukers, B.; Gülkan, H.; Irsen, S. H. et al. - Biocompatibility of ceramic scaffolds for bone replacement made by 3D printing, *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, (2005), **36**, 781-87.
- [70] Warnke, P. H.; Seitz, H.; Warnke, F. et al. - Ceramic scaffolds produced by computer-assisted 3D printing and sintering: Characterization and biocompatibility investigations, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, (2010), **93B**, 212-17.
- [71] Driessens, F. C. M.; Ramselaar, M. M. A.; Schaeken, H. G. et al. - Chemical reactions of calcium phosphate implants after implantation in vivo, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (1992), **3**, 413-17.
- [72] Ramalho, E. G. - Obtenção de cerâmicas à base de tricálcio fosfatos utilizando óxido de manganês como aditivo, Natal, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, (2006).
- [73] Peters, F.; Reif, D. - Functional Materials for Bone Regeneration from Beta-Tricalcium Phosphate, *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, (2004), **35**, 203-07.
- [74] Tamimi, F.; Torres, J.; Gbureck, U. et al. - Craniofacial vertical bone augmentation: A comparison between 3D printed monolithic monetite blocks and autologous onlay grafts in the rabbit, *Biomaterials*, (2009), **30**, 6318-26.
- [75] Habibovic, P.; Gbureck, U.; Doillon, C. et al. - Osteoconduction and osteoinduction of low-temperature 3D printed bioceramic implants, *Biomaterials*, (2008), **29**, 944-53.
- [76] Klammert, U.; Reuther, T.; Jahn, C. et al. - Cytocompatibility of brushite and monetite cell culture scaffolds made by three-dimensional powder printing, *Acta Biomaterialia*, (2009), **5**, 727-34.
- [77] Khalyfa, A.; Vogt, S.; Weisser, J. et al. - Development of a new calcium phosphate powder-binder system for the 3D printing of patient specific implants, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2007), **18**, 909-16.

- [78] Igawa, K.; Mochizuki, M.; Sugimori, O. et al. - Tailor-made tricalcium phosphate bone implant directly fabricated by a three-dimensional ink-jet printer, *Journal of Artificial Organs*, (2006), **9**, 234-40.
- [79] Weinand, C.; Pomerantseva, I.; Neville, C. M. et al. - Hydrogel- β -TCP scaffolds and stem cells for tissue engineering bone, *Bone*, (2006), **38**, 555-63.
- [80] Shanjani, Y.; Hu, Y.; Pilliar, R. M. et al. - Mechanical characteristics of solid-freeform-fabricated porous calcium polyphosphate structures with oriented stacked layers, *Acta Biomaterialia*, (2011), **7**, 1788-96.
- [81] Thamaraiselvi, T. V.; Rajeswari, S. - Biological Evaluation of Bioceramic Materials - A Review, *Trends in Biomaterials & Artificial Organs*, (2004), **18(1)**, 9-17.
- [82] Suwanprateeb, J.; Sanngam, R.; Suvannapruk, W. et al. - Mechanical and in vitro performance of apatite-wollastonite glass ceramic reinforced hydroxyapatite composite fabricated by 3D-printing, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, (2009), **20**, 1281-89.
- [83] Jones, J. R.; Hench, L. L. - Regeneration of trabecular bone using porous ceramics, *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, (2003), **7**, 301-07.
- [84] Utela, B.; Storti, D.; Anderson, R. et al. - A review of process development steps for new material systems in three dimensional printing (3DP), *Journal of Manufacturing Processes*, (2008), **10**, 96-104.
- [85] Yao, A. W. L.; Tseng, Y. C. - A robust process optimization for a powder type rapid prototyper, *Rapid Prototyping Journal*, (2002), **8**, 180-89.
- [86] Udriou, R. - Rapid Tooling by Three Dimensional Printing (3DP), *Recent Researches in Manufacturing Engineering*, 177-80.
- [87] Vaezi, M.; Chua, C. K. - Effects of layer thickness and binder saturation level parameters on 3D printing process, *International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, (2011), **53**, 275-84.
- [88] Suwanprateeb, J.; Kerdsook, S.; Boonsiri, T. et al. - Evaluation of heat treatment regimes and their influences on the properties of powder-printed high-density polyethylene bone implant, *Polymer International*, (2011), **60**, 758-64.
- [89] Suwanprateeb, J.; Chumnanklang, R. - Three-Dimensional Printing of Porous Polyethylene Structure Using Water-Based Binders, *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials*, (2006), **78B**, 138-45.

- [90] Tay, B.; Zhang, S.; Myint, M. et al. - Processing of polycaprolactone porous structure for scaffold development, *Journal of Materials Processing Technology*, (2007), **182**, 117-21.
- [91] Gbureck, U.; Vorndran, E.; Müller, F. A. et al. - Low temperature direct 3D printed bioceramics and biocomposites as drug release matrices, *Journal of Controlled Release*, (2007), **122**, 173-80.
- [92] Butscher, A.; Bohner, M.; Roth, C. et al. - Printability of calcium phosphate powders for three-dimensional printing of tissue engineering scaffolds, *Acta Biomaterialia*, (2011).
- [93] Stopp, S.; Wolff, T.; Irlinger, F. et al. - A new method for printer calibration and contour accuracy manufacturing with 3D-print technology, *Rapid Prototyping Journal*, (2008), **14**, 167-72.
- [94] Hsu, T.-J.; Lai, W.-H. - Manufacturing parts optimization in the three-dimensional printing process by the Taguchi method, *Journal of the Chinese Institute of Engineers*, (2010), **33**, 121-30.
- [95] Jee, H. J.; Sachs, E. - A visual simulation technique for 3D printing, *Advances in Engineering Software*, (2000), **31**, 97-106.
- [96] Kokubo, T.; Takadama, H. - How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*, (2006), **27**, 2907-15.
- [97] Silva, A. M. B.; Correia, R. N.; Oliveira, J. M. M. et al. - Structural characterization of TiO₂-P₂O₅-CaO glasses by spectroscopy, *Journal of the European Ceramic Society*, (2010), **30**, 1253-58.
- [98] Kishioka, A. - Glass formation in the Li₂O-TiO₂-P₂O₅, MgO-TiO₂-P₂O₅, and CaO-TiO₂-P₂O₅ systems, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, (1978), **51(9)**, 2559-61.
- [99] Kishioka, A.; Haba, M.; Amagasa, M. - Glass Formation in Multicomponent Phosphate Systems Containing TiO₂, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, (1974), **47(10)**, 2493-96.

6. Anexos

MATERIAL SAFETY DATA SHEET

Complies with Approved Code of Practice: Chemical (Hazard Information and Packaging for Supply) Regulations 2002 (UK) and European 91/155/EEC, 67/548/EEC, 1999/45/EC format, Australian NOHSC: 1008, 10005(1999), 2011(2003) and 2001/58/E, ANSI Standard Z400.1 and U.S. Federal OSHA Hazard Communication

Section 1. Identification of Chemical Substance and Company

- 1.1. PRODUCTS IDENTIFICATION: **zp®140**
- 1.2. USE OF SUBSTANCE: Plaster powder for making rapid-prototyping 3D models.
- 1.3. DISTRIBUTION COMPANY: Z Corporation
32 Second Ave.
Burlington, MA 01803
Contact Person: Manager of Technical Services
Telephone Number: 781-852-5005
Foreign Contact: +(45) 48 14 11 22
Svanevang 2, 3450 Allerød, Denmark
Date of Preparation: 12/06 **Revised:** 4/07
- 1.4. EMERGENCY TELEPHONE: 781-852-5005

Section 2. Composition/Information of Ingredients

Substance is a mixture with following general composition:

Component Classified As Dangerous (CHIP3)	Approximate % by weight	C.A.S. No. & EINECS No.	UK/EU Classification
1. Plaster	50-98%	Trade Secret	S24/25-22
2. Vinyl Polymer	2-20%	Trade Secret	S22,S26,S51

Section 3. Hazard Identification

Potential Human Health Effects:

May cause irritation of the eyes, mucous membranes, and respiratory tract. May be harmful by inhalation, ingestion, or skin absorption. Eye contact may cause mechanical abrasion with burning, tearing and redness. Ingestion may cause inflammation of the mouth, throat, esophagus and/or stomach.

Target Organs or Systems:

Caution: May cause irritation to the eyes, skin, mucous membranes, upper respiratory tract.

Route of Exposure:

Skin Contact: May cause skin irritation.

Eye Contact: May cause eye irritation.

Inhalation: May be harmful if inhaled. Overexposure may cause nasal discharge, hoarseness, coughing, chest pain and breathing difficulty.

Ingestion: Inflammation of mouth, throat, esophagus and/or stomach.

Signs and Symptoms of Exposure:**Acute:**

May cause irritation of the eyes, skin, mucous membranes, and respiratory tract. May be harmful by inhalation, ingestion, or skin absorption.

Chronic:

Overexposure may cause irritation of the respiratory tract, irritation of the digestive tract, or local irritation at the site of exposure. Significant exposure to this chemical may adversely affect people with acute or chronic disease of the respiratory tract, eyes, digestive tract.

Carcinogens Under OSHA, ACGIH, NTP, IARC, OTHER:

Vinyl polymer is listed as unclassifiable as to carcinogenicity in humans, IARC Group 3.

Potential Environmental Effects:

No significant environmental hazards are expected if material is released to the environment.

Section 4. Emergency First Aid**Inhalation:**

Remove from area to fresh air. Seek medical attention if respiratory irritation develops or if breathing becomes difficult.

Eye Contact:

Immediately flush eyes with copious amounts of water for at least 15 minutes. Call physician if irritation continues.

Skin Contact:

Immediately wash skin with soap and rinse with large amounts of water. Remove and wash contaminated clothing promptly.

Ingestion:

Wash out mouth with water provided the person is conscious and seek medical attention. Plaster hardens when wetted and, if ingested, may result in obstruction of the gut.

Section 5. Fire and Explosion Hazard

Flash point (Method Used)	Flammable limits	LEL	UEL
	Not Applicable	Not Applicable	Not Applicable
Product is not combustible.			

Extinguishing Media:

Water spray, carbon dioxide, dry chemical powder, or appropriate foam.

Special Fire Fighting Procedures

As with all fires, fire fighters should wear full protective gear including supplied air respirators.

Unusual Fire & Explosion:

Emits toxic fumes under fire conditions. Avoid conditions, which produce dust.

Section 6. Accidental Release Measures**Procedures of Personal Precautions:**

Wear respirator, chemical safety goggles, and chemical gloves.

Environmental Precautions:

No significant environmental hazards identified. Surfaces subject to spills or dusting with this product can become slippery when wet, use care to avoid falls.

Methods of Cleaning Up:

Sweep or vacuum material from spillage into a waste container for disposal. Avoid production of dust. Do not flush down drains. Place in closed containers. Ventilate area and wash spill site after material pickup is complete.

Waste Disposal Method:

Follow safe solid waste disposal guidelines in accordance with federal, state and local regulations. National or regional provisions may also be in force.

Section 7. Storage and Handling

Handling Precautions:

User Exposure: Avoid handling procedures that produce high levels of dust.

Storage Precautions:

Suitable: Store product in a cool, dry, ventilated area away from sources of heat, moisture, strong oxidizing materials and explosives. Keep containers tightly closed.

Special Requirements:

Under planned use this product should not result in excessive dust or hazards to the user following the recommended processes for creating prototype models.

Section 8. Exposure Controls & Personal Protection

Exposure Limit Values:

The European Member States have different standards for the components in this preparation. These powders are potentially irritant dusts with general exposure standard of 10 mg/m³. Particulates not otherwise classified (total dust) in Germany are 6 mg/m³, and 10 mg/m³ in other European Countries. The respirable dust levels are 5 mg/m³.

Component	IOELVs (UK)	EC OEL	ACGIH TLV	OSHA PEL
1. Plaster	General Dust 4 mg/m ³ Inhalable 1.5 mg/m ³ R	10 mg/m ³	10 mg/m ³ Inhalable 3 mg/m ³ R	15 mg/m ³ Total 5 mg/m ³ Respirable
2. Vinyl Polymer	None Established	None Established	None Established	None Established

Notations:

IOELVs = Indicative Occupational Exposure Limit Values

OEL = Occupational Exposure Limits

TLV = Threshold Limit Value

R = Respirable

TWA = time weighted average

PEL = Permissible Exposure Limit

STEL = Short Term Exposure Limit

Exposure Controls:

Ventilation Controls:

Use mechanical ventilation to prevent dust generation, if necessary.

Respiratory Protection:

Respirators are generally not needed under normal conditions of use. If dust levels exceed the exposure limits use an NIOSH-approved dust respirator (N95 or better).

Protective Gloves:

Avoid skin contact by use of neoprene, butyl, PVC-coated or like type chemical resistant gloves for dust exposure.

Eye Protection:

Safety goggles for dust are recommended during powder additions and cleaning.

Skin Protection:

Special skin protection is not routinely needed when using the product. If clothing becomes contaminated wash contaminated clothing before reuse.

Other Controls:

Safety shower and eyewash. Wash contaminated clothing before reuse. Always use good personal hygiene and housekeeping practices to minimize dust exposures. Wash thoroughly after handling.

Environmental Exposure Controls:

This product is not known to contain chemical components requiring specific environmental exposure controls. Specific environmental requirements, however do vary and each user needs to follow local Community environmental protection requirements.

Section 9. Physical & Chemical Properties

Appearance: White Powder

Boiling Point (C°): Not applicable (NA)

Melting Point: 1450°C

Vapor Pressure (MM Hg): NA

Relative Density: 2.64 g/cm³

Volatility: No

Initial distillation point: NA

Solubility: 0.83% (3°C)

Flash Point: NA

Section 10. Stability and Reactivity

Stability: Stable in dry environments. Dew point conditions or other conditions causing presence of liquid will harden the material.

Conditions to Avoid: Avoid hot wet / high humidity conditions.

Materials to Avoid: Incompatible: Oxidizers and reactive metals (sodium, zinc, copper, calcium, etc.)

Hazardous Decomposition Products: Carbon monoxide. Nature of decomposition products not entirely known.

Hazardous Polymerization: Will not occur.

Section 11. Toxicological Information

Data for product components only, mixture not evaluated.

1. Plaster	
<i>Rat</i>	Oral LD50 - >2,000 mg/kg
<i>Rabbit</i>	No skin irritation
<i>Guinea Pig</i>	Not a skin sensitizer
<i>Other</i>	Ames bacterial Test – no mutagenicity
2. Vinyl Polymer	
<i>Rabbit</i>	Skin: In powder form, nonirritating. In aqueous solution, slight irritation. Practically nontoxic to animals. Skin LD50 – >1000 mg/kg Eye: The powder and aqueous solutions are slightly irritating to rabbit eyes; irritation subsided by 48 hours after exposure.
<i>Rat</i>	Inhalation LC50 – >20.0 mg/l 1 hr exposure. Note: This study is of limited quality since the concentration reported was nominal (i.e. not measured analytically): practically nontoxic to animals by acute inhalation exposure. Oral LD50 ->5000 mg/kg
<i>Guinea Pig</i>	Not a skin sensitizer in guinea pigs when dosed as a 10% aqueous solution.
<i>Other</i>	IARC Cancer Review: Group 3 IMEMDT 7,56,87; Animal Limited Evidence IMEMDT 19,341,79; Human Inadequate Evidence IMEMDT 19,341,79. Mutagenicity: Not mutagenic in vitro (Ames Test; Cytogenetic (Chromosomal Aberration) Assay in Chines Hamster V-79 Cells). Not mutagenic in vivo (mouse micronucleus assay).

Section 12. Ecological Information

Data for product components only, mixture not evaluated.

1. Plaster					
No known adverse effect on ecology.					
2. Vinyl Polymer					
<i>Aquatic Toxicity</i>	Test: LC50 Fish Species: Pimephales promelas Value: >40,000 ppm Time: 96 hr	Test: LC50 Fish Species: Lepomis macrochirus Value: > 10,000 ppm Time: 96 hr	Test: LC50 Crustacean Species: Ceriodaphnia dubia Value: 7,850 ppm Time: 48 hr	Test: LC50 Crustacean Species: Daphnia magna Value: 8,300 ppm Time: 48 hr	Test: EC50 Bacteria Species: Photobacterium phosphoreum Value: >50,000 ppm
<i>Bioaccumulation</i>	Biodegradability >90 (Zahn-Wellens test)				
<i>Biodegradability</i>	Biological Oxygen Demand (BOD): BOD5 = 0-5%; BOD30 = 100% Chemical Oxygen Demand (COD): 1,800 mg/g				

Section 13. Disposal Considerations

Follow disposal procedures in accordance with federal, state and local regulations or applicable national or regional provisions.

Section 14. Transportation Information

Non-regulated material.

Section 15. Regulatory Information

The following provides a summary of the legal requirements.

Ingredient	EPA TSCA	CA Prop 65	European Economic Community (EEC)				Canada Regs	
			EINECS	European Community Standards	Listed as dangerous chemicals	EEC Symbol	DSL	NPRI
(1) Plaster	Yes	No	Yes	Nuisance dust 10 mg/m ³	S24/25-22	None	No	No
(2) Vinyl Polymer	Yes	No	Yes	Nuisance dust 10 mg/m ³	S22,S26, S51	None	Yes	No

DSL = Canadian Domestic Substance List

NPRI = National Pollutant Release Inventory

Relevant Risk and Safety Phrases for the Mixture:

Safety Phrases:

S2: Keep out of reach of children

S7: Keep container tightly closed

S22: Do not breathe dust

S24/25: Avoid contact with skin and eyes

S26: In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice

S36/37: Wear suitable personal protective equipment and gloves

S51: Use only in well ventilated areas

Pursuant to Title III of the Superfund Amendments and Reauthorization Act of 1986, (SARA) and 40 CFR 372 Part 372, this product does not contain any chemicals subject to the reporting requirements under Section 313.

This product does not contain chemicals subject to the reporting requirements under the Canadian National Pollutant Release Inventory (NPRI).

California Proposition 65: This product does not contain ingredients which are known to the state of California to cause cancer.

Section 16. Other Information

HMS (Hazardous Materials Information System) for secondary labeling:

Health 1

Fire Hazard 0

Reactivity 1

Personal Protective Equipment B

Reason for Revision: Updated physical data.

References

- 1) 2006 Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
- 2) MSDS + Cheminfo Canadian Centre for Occupational Health and Safety
- 3) SAX'S Dangerous Properties of Industrial Materials, Tenth Edition
- 4) ESIS:European Chemical Substance Information System
- 5) TSCA & SARA Title III, CD-ROM, Produced by the U.S. Environmental Protection Agency and the National Technical Information Services
- 7) Raw Material Manufacturers Material Safety Data Sheets
- 8) US National Institute of Medicines Toxnet current 2007
- 9) NOHSC Hazardous Information Substances Information System, Department of Employment and Workplace Relations, Australian Government, 2005

Z Corporation believes the information and recommendations contained herein to be accurate and reliable. However, no liability whatsoever is assumed for the accuracy or completeness of the information contained herein. Final determination of occupational safety and health and environmental compliance and suitability of this material is the sole responsibility of the user. All materials may present unknown health hazards and should be used with caution. Although certain hazards are described herein, we cannot guarantee that these are the only hazards that exist. Z Corporation assumes no obligation or liability for such information and recommendations and does not guarantee results from use of product described or other information contained herein.

Anexo B - Calibração da temperatura do forno

Foi elaborado um estudo do gradiente de temperaturas no forno a um patamar de 660°C e verificou-se que a zona quente se encontra posicionada a meio da área interna do forno, onde se localiza o termopar interno de controlo do forno (Figura 49). Esta análise de temperaturas foi importante, uma vez que diferentes temperaturas podem conferir características diferentes nas amostras sinterizadas. Perante isto, foi identificada a zona onde se posicionaram as amostras impressas a serem alvo de tratamento térmico.

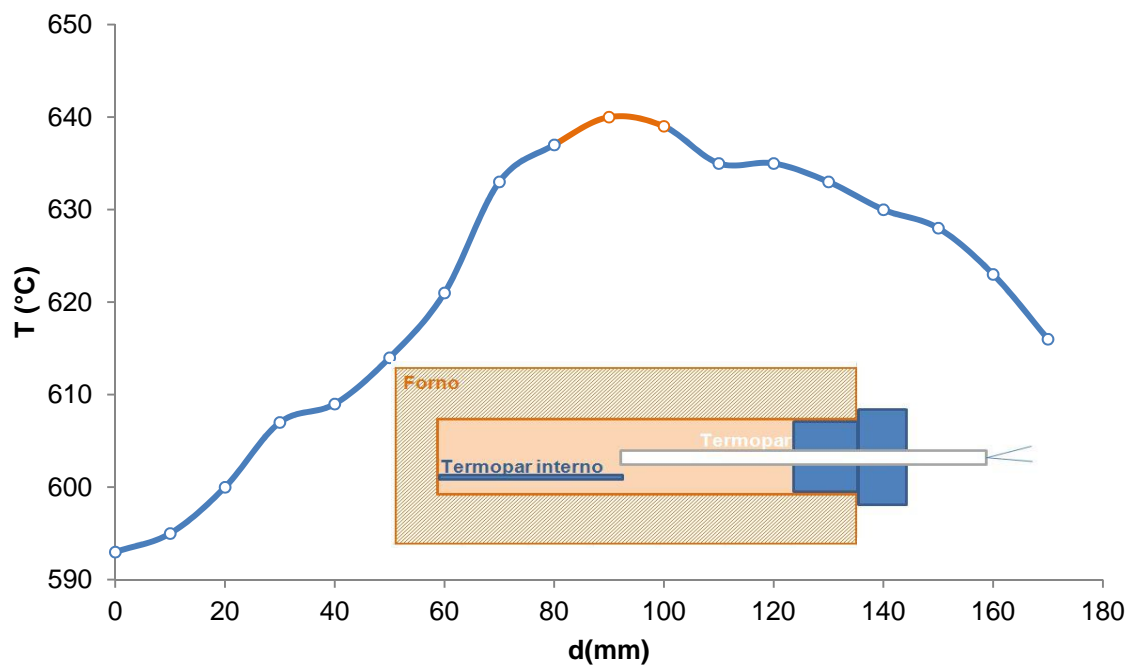


Figura 49. Gradiente de temperaturas no forno.